SÉRIE A,
Nº D'ORDRE 941

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR INGÉNIEUR

PAR

Pierre FEILLET

1re THÈSE

CONTRIBUTION A L'ÈTUDE DES PROTÈINES DU BLÉ. INFLUENCE DES FACTEURS GÉNÉTIQUES, AGRONOMIQUES ET TECHNOLOGIQUES.

2e THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 3 mai 1965 devant la Commission d'Examen :

MM. CHOUARD *Président.*
ULRICH, PETIT } *Examinateurs.*

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
149, rue de Grenelle, Paris-7e

Série A,
N° d'ordre 941

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR INGÉNIEUR

PAR

Pierre FEILLET

1re THÈSE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES PROTÉINES DU BLÉ. INFLUENCE DES FACTEURS GÉNÉTIQUES, AGRONOMIQUES ET TECHNOLOGIQUES.

2e THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 3 mai 1965 devant la Commission d'Examen :

MM. CHOUARD *Président.*
ULRICH, PETIT } *Examinateurs.*

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
149, rue de Grenelle, Paris-7e

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544307_0073

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen..... M. ZAMANSKY

BRELOT	T	Analyse supérieure.
PRENANT	T	Anatomie et histologie comparée.
GRASSE	T	Évolution des êtres organisés.
PRÉVOST	T	Chimie organique.
WYART	T	Minéralog. et cristallog.
TEISSIER	T	Zoologie.
MANGENOT	T	Biologie végétale (Orsay).
AUGER	T	Physique quantique et relativité.
MONNIER	T	Physiologie générale.
PIVETEAU	T	Paléontologie.
ROCARD	T	Physique ENS.
CARTAN	T	Mathématiques ENS.
LAFFITTE	T	Chimie générale.
N	T	Géométrie supérieure.
COULOMB	T	Physique du globe.
Mlle COUSIN	T	Biologie animale SPCN.
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.
BOCQUET	T	Zoologie.
KASTLER	T	Physique ENS.
EPHRUSSI	T	Génétique.
RIVIÈRE	T	Géologie SPCN et sédiment. (Orsay).
GAUTHERET	T	Biologie végétale PCB.
LUCAS R.	T	Recherches physiques.
THOMAS A.	T	Biologie cellulaire.
ARNULF	T	Optique appliquée.
MORAND	T	Physique enseignement.
SOLEILLET	T	Physique PCB.
FORTIER	T	Mécanique exp. des fluides.
DRACH	T	Zoologie.
QUENEY	T	Météo et dynamique atmos.
GALLIEN	T	Embryologie.
EICHORN	T	Botanique.
DE CUGNAC	T	Biologie végétale SPCN.
Mlle CAUCHOIS	T	Chimie physique.
THELLIER	T	Physique du globe.
L'HÉRITIER	T	Biologie générale (Orsay).
GRIVET	T	Radioélectricité (Orsay).
PONCIN	T	Mécanique générale.
DU BREIL	T	Arith. et théor. des nombres
QUELET	T	Chimie organique.
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire.
CUVILLIER	T	Micropaléontologie.
JUNG	T	Géologie.
TRILLAT	T	Microscopie et diffrac. élec.
WIEMANN	T	Chimie organ. et structur.
JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste (Orsay).
VASSY	T	Physique de l'atmosphère.
DESTOUCHES	T	Théorie physique.
AMIEL	T	Chimie générale.
HOCART	T	Minéral. et cristal.
MATHIEU J.-P.	T	Physique optique.
COUTEAUX	T	Cytologie.
MAY	T	Zoologie.
CHOQUET	T	Théorie des fonctions et topologie.
FELDMANN	T	Biologie végétale marine.
GUINIER	T	Physique des solides (Orsay).
JOST	T	Physiologie comparée.
FORTET	T	Calcul des probabilités et physique mathématique.
SCHWARTZ	T	Calcul dif. et Intégral.
CHOUARD	T	Physiologie végétale.
MALAVARD	T	Aviation (techn. aéron.).
NORMANT	T	Synthèse organique.
BÉNARD	T	Chimie minérale.
BUVAT	T	Botanique ENS.
DUGUÉ	T	Statistique mathématique.
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
ULRICH	T	Physiologie vég. appli.
MARÉCHAL	T	Optique théo. et appli.
KIRRMANN	T	Théories chimiques.
CHADEFAUD	T	Botanique.
Mlle LE BRETON	T	Physiol. de la nutrition.
LELONG	T	Appli. de l'ana. à la géom.
DEVILLERS	T	Anatomie et histo. compa.
EHRESMANN	T	Topologie algébrique.
FRANCON	T	Physique SPCN.
GLANGEAUD	T	Géogr. phys. et géol.
DODEMENT	T	Mathématiques MGP.
PISOT	T	Technique math. de la phys.
ROCH	T	Géologie.
SCHATZMANN	T	Astrophysique.
TERMIER	T	Géologie générale.
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.
LENNUIER	T	Physique MGP.
RIZET	T	Génétique (Orsay).
ROUTHIER	T	Géologie appliquée.
Mme TONNELAT	T	Physique théorique.
DIXMIER	T	Mathématiques MPC.
SOUCHAY	T	Chimie générale.
AIGRAIN	T	Électrotechn. gén.
BRUSSET	T	Chimie systématique.
M. LÉVY	T	Physique théorique des hautes énergies (Orsay).
Mme CHAIX	T	Chimie biologique.
Mme HUREL-PY	T	Biologie végétale PCB.
PANNETIER	T	Chimie générale.
BRUN	T	Mécaniques des fluides I.
LEDERER	T	Chimie biologique (Orsay).
Mme DUBREIL	T	Mathématiques (agréga.).
Mme LELONG	T	Math. II ENS.
BELLAIR	T	Géologie SPCN.
COTTE	T	Physique électricité.
DUBOIS J. E.	T	Chimie organique.
LAMOTTE	T	Zoologie ENS.
MICHEL A	T	Chimie minérale (Orsay).
OLMER	T	Énergétique générale.
ROUAULT	T	Électricité (Orsay).
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.
BARCHEWITZ	T	Chimie physique.
BROSSEL	T	Physique atomique.
BUSER	T	Physiologie comparée.
CAMUS	T	Physiol. végét.
CASTAING	T	Physique II thermo (Orsay).
CURIEN	T	Minéral. et cristal.
MOYSE	T	Physiol. végét. (Orsay).
Mme CHARNIAUX-COTTON	T	Évolution des êtres organisés.
POSSOMPES	T	Zoologie.
PULLMANN	T	Chimie quantique.
TEILLAC	T	Physique nucl. et radioactivité (Orsay).
TONNELAT	T	Biol. phys. chim. (Orsay).
VILLE	T	Économétrie.
WILLEMART	T	Chimie PCB.
DODE	T	Chimie (Orsay).
FREYMANN	T	Recherches physiques.
GUINOCHET	T	Biol. vég. SPCN (Orsay).
ROLLET	T	Chimie minérale.
Mlle JOSIEN	T	Chimie SPCN.
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes.
ARNOULT	T	Électronique (Orsay).
CHAPELLE	T	Physique I (Orsay).
DELANGE	T	Mathématiques I (Orsay).
DENY	T	Mathém. gén. (Orsay).
GERMAIN	T	Mécanique théorique des fluides.
LUCAS	T	Géologie.
ALLARD	T	Chimie physique.
BERTHELOT	T	Physique des particules fondamentales (Orsay).
BRICARD	T	Météor. et phys. de l'atmos.
Mme ALBE-FESSARD	T	Psycho. physio.
FRIEDEL	T	Physique des solides (Orsay).
M. JULIA	T	Études des moléculaires complexes.
LENDER	T	Biologie animale SPCN (Orsay).
MAGAT	T	Physico-chimie des radio-éléments.
Mlle QUINTIN	T	Électrochimie.
MONOD	T	Chimie du métabolisme.
BENOIT	T	Physiol. animale (Orsay).
DE POSSEL	T	Analyse numérique.

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK LEIDEN

CHARLOT	T	Chimie analytique.
LEMÉE	T	Écologie végétale (Orsay).
GUÉRIN	T	Chimie MCP (Orsay).
CHATELET	T	Chimie PCB.
JEAN	T	Physio. nucléaire (Orsay).
MATTLER	T	Physique SPCN.
BERGERARD	T	Zoologie (Orsay).
BERTEIN	T	Électronique (Orsay).
BOUISSIÈRES	T	Radiochimie.
Mme COUTURE	T	Therm. et mécan. physique.
ELLEMBERGER	T	Géologie des grandes régions du globe (Orsay).
FRANC	T	Biologie animale PBC.
SCHNELL		Botanique tropicale.
ZTLOKOWSKI	T	Physiologie végétale.
ACHER	T	Chimie biologique.
BAUDOIN	T	Biologie animale PCB.
BEAUMONT		Biologie animale SPCN.
BLAMONT	T	Géophysique ionosphère.
BOUREAU	T	Botanique.
CURIE D		Physique MGP.
DURAND-DELGA	T	Géologie.
FRÉON	T	Chimie organique (Orsay).
HELLER	T	Physiologie végétale.
TORTRAT	T	Calcul des probabilités.
CAILLEUX	T	Géologie SPCN.
MAGNAN		Physique électricité.
MAUDEL	T	Mécanique ondulatoire appliquée à la chimie théor. et la phys. nucléaire.
Mlle FOURCROY		Biologie végétale SPCN.
Mme CHOQUET-BRUHAT	T	Mécanique analytique et mécan. céleste.
Mlle VEIL	T	Physiologie générale.
LWOFF	T	Microbiologie.
SIESTRUNCK	T	Mécan. phys. et expérimentale.
LACOMBE	T	Métallurgie des métaux nucléaires (Orsay).
BROCHARD	T	Physique PCB (Orsay).
CABANNES	T	Mécanique générale.
LESIEUR	T	Math. I (Orsay).
MAZET	T	Mécan. gén. (Orsay).
CAIRE		Géographysique et géodynamique.
COMOLET		Mécan. des fluides.
CORABŒUF	T	Physiol. animale (Orsay).
DELLOUE	T	Physique de l'exosphère.
GORENFLOT		Botanique II (Orsay).
HOUILLON		Biologie animale PCB.
JULLIEN J.		Chimie SPCN (Orsay).
MALGRANGE	T	Technique mathém. de la phys. (Orsay).
OLIVIER		Antropologie.
NOZERAN	T	Botanique II (Orsay).
BLANC-LAPIERRE	T	Physique ENS (Orsay).
CHEVAUGEON	T	Botanique (Orsay).
KAHANE	T	Mathématiques (Orsay).
SAMUEL	T	Math. ENS féminines.
KOURGANOFF	T	Astronomie (Orsay).
THIRY	T	Mécan. céleste.
ABELES		Physique SPCN.
AMAT	T	Physique PCB.
AUBOIN	T	Géologie.
Mme BENOIT GUEUTAL	T	Physique nucléaire et radioactivité (Orsay).
BOUGIS		Biol. marine (Villefranche-sur-mer).
BRUHAT	T	Math. PMC.
BRUNN	T	Géologie historique (Orsay).
CHABBAL	T	Physique MGP (Orsay).
DEHEUVELS	T	Math. propéd.
D'ESPAGNAT	T	Physique théorique (Orsay).
FURON	T	Géologie SPCN.
Mme GANS	T	Génétique.
GENÈVES		Biologie végétale PCB.
GUILBERT		Physique CUS (Orléans).
HUPE	T	Pétrographie.
HOLLANDE	T	Biolo. gén.
LIONS	T	Analyse numérique.
MAITTE	T	Chimie PCB.
MEYER		Physique propé.
NICOLAS		Géologie appliquée.
PANIGEL		Biologie générale.
RAVIER		Pétrographie.
ROSEAU	T	Mécan. théorique des fluides.
ROUBINE		Électronique.
SILBER	T	Chimie PCB.
UEBERSFELD	T	Électronique.
YVON	T	Théories physiques.
HERVÉ	T	Mathématiques.
NÉRON	T	Math. MPC (Orsay).
Mme PECKER-WIMEL	T	Astrophysique.
BALKANSKY		Physique MPC.
LE CORRE	T	Électricité.
DELCROIX	T	Physique théorique (Orsay).
GOURDIN		Physique théorique des hautes énergies. (Orsay).
LEHMANN	T	Phys. exp. des hautes énergies.
NATAF	T	Physique nucléaire et radioactivité (Orsay).
ÉCHALIER		Biologie animale PCB.
BARRAUD		Physiolo. cellulaire.
LIORET		Physiologie vég. (Orsay).
DARS		Géologie structurale et géologie appliqué.
CAMEFORT	T	Botanique (agrégation).
VICHNIEWSKY	T	Mécanique industrielle.
BLAQUIÈRE		Électronique (Orsay).
ARNOUS	T	Physique théorique.
TATIBOUET		Chimie (CSU Orléans).
MALLIVIN	T	Math. propéd. (Orsay).
GAUDEMAR		Chimie propéd.
PEREZ Y JORBA		Physique exp. des Hautes énergies (Orsay).
DAVID	T	Chimie (agrégation Orsay).
BROUSSE	T	Mécanique théorique.
ROSCH	T	Astronomie.
GUY	T	Physique expérimentale.
LAZARD		Math. MPC.
MOREL Pierre		Physique MPC.
ARSAC		Programmation.
LEFEBVRE		Chimie MPC.
CHAPEVILLE		Biochimie.
BENOIT		Physique CPEM.
RIO		Chimie CPEM.
JAUZEIN		Géologie ENS.
PRÉVOST Georges		BV CPEM.
FAVARD P.		BA CPEM.
VILKAS		Chimie CPEM.
Mlle FICINI		Chimie CPEM.
LEQUEUX		Astronomie.
COHEN TANNOUDJI		Physique MPC.
TAVERNIER		Physique CPEM.
Mme ROIZEN		Physique CPEM.
DURAND M.		BA SPCN.
PASCAUD		Physiologie.
Mme PETIT		BA CPEN.
BROUSSE		Géologie (Orsay).
CAGNAC		Physique agrégation (Orsay).
LEBERRE		Zoologie (Orsay).
SCHEFFER		Microbiologie (Orsay).
DE GENNES		Physique des solides (Orsay).
RIOU		Physique nuclé. exp. (Orsay).
CLAUSER		Chimie biol. (Orsay).
CHEVALIER		Physiol. animale (Orsay).
JANCOVICI		Physique atomique (Orsay).
FALK-VAIRANT		Physique nucléaire (Orsay).
FÉTIZON		Chimie propéd. (Orsay).
CERF		Mathématiques (Orsay).
LURCAT		Physique.
RIGAUDY		Chimie S.P.C.N.
SIGWALT		Idem.
FOURNET		Électricité générale.
COLLONGUES		Chimie C.P.E.N.
DUBERT		Biochimie.
LAVOREL		Biologie physico chimique.
MOREL F.		Physiologie comparée.
TALBOT		Génétique chimique.
Mme NOUGARÈDE		Botanique.
FRANÇOIS		Zoologie.
IVANOFF		Océanographie physique.
CADIOT		Chimie organique.
BARUCH		Physique propédeutique.
NOZIÈRES		Physique générale.
BOK		Physique propédeutique.
SLONIMSKI		Génétique.

Secrétaire général..... R. POULAIN

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES PROTÉINES DU BLÉ. INFLUENCE DES FACTEURS GÉNÉTIQUES, AGRONOMIQUES ET TECHNOLOGIQUES.

J'exprime ma reconnaissance à M. le Professeur CHOUARD pour la bienveillante confiance qu'il m'a témoignée et l'honneur qu'il m'a fait d'accepter la présidence de cette thèse.

M. BOURDET, maître de recherches à l'INRA, n'a cessé de me prodiguer ses enseignements et ses conseils. L'intérêt qu'il a constamment porté à ce travail a été pour moi le meilleur encouragement. Qu'il veuille trouver ici l'expression de ma très vive gratitude.

Je remercie M. le Professeur ULRICH et M. PETIT, directeur de recherches à l'INRA, qui ont bien voulu s'intéresser à cette thèse et accepter de la juger.

J'adresse également mes remerciements à M^lles GOBIN, LIBOT et VAXELAIRE pour leur précieuse et dévouée collaboration.

Que M^me VANDERHAEGEN, ainsi que tous ceux qui ont contribué, à des titres divers, à la réalisation de ce travail trouvent ici le témoignage de ma reconnaissance.

INTRODUCTION

Il est bien évident que la teneur en protéines des blés et de leurs produits de mouture conditionne pour une large part leurs aptitudes technologiques, et on sait qu'il existe une richesse protéique optimum, variable selon les techniques de transformation et la nature du produit fini. Il est possible d'obtenir à partir d'une même variété de blé des farines de teneur azotée différente, soit en modifiant les facteurs du milieu (nature du sol, type de fertilisation, climat) qui président au développement de la plante, soit en faisant appel à certaines techniques modernes de mouture.

A cette notion de quantité se superpose la notion de qualité protéique. Car deux farines de même teneur en matériel azoté ne manifesteront pas nécessairement les mêmes aptitudes sur le plan technologique. Ce facteur qualité, d'importance primordiale pour les industries utilisatrices et transformatrices des céréales, n'apparaîtrait pas sensiblement modifié par les facteurs agronomiques, mais serait davantage associé aux particularités génétiques des blés : on peut l'assimiler à cette caractéristique variétale que les sélectionneurs, les producteurs et les technologistes appellent « force ».

On a, bien entendu, cherché à mesurer ce facteur de qualité qu'est la force des blés : la plupart des méthodes conçues à cet effet reposent sur l'appréciation des propriétés des protéines, soit directement par des tests physiques ou chimiques (mesures de viscosité, de sédimentation, d'imbibition), soit indirectement par détermination des propriétés rhéologiques des pâtes. Mais dans leur ensemble, ces techniques utilisent des conditions empiriques et les données expérimentales auxquelles elles conduisent sont difficilement comparables entre elles.

Il est clair que les facteurs intimes qui régissent la qualité protéique échappent à de telles méthodes. Une meilleure connaissance des phénomènes en cause implique donc une étude physicochimique plus fondamentale des constituants protéiques des blés et des produits qui en dérivent.

C'est cette étude, qu'après bien d'autres chercheurs, nous avons abordée en mettant à profit les techniques d'investigation dont dispose actuellement le biochimiste.

Nous avons d'abord tenté d'établir un protocole expérimental d'étude des protéines du blé qui conduise à des résultats rendant compte, aussi fidèlement que possible, de la composition et de la constitution protéique des farines. A cet effet, nous avons dû préciser les caractéristiques physiques et chimiques des protéines étudiées (solubilité, composition chimique, comportement électrophorétique et chromatographique) ; les résultats obtenus ont été précisés par l'étude de leur évolution au cours de la maturation du grain.

Des méthodes d'analyse étant ainsi définies, nous nous sommes alors efforcé de

relier la composition et certains aspects de la constitution protéique des farines aux particularités génétiques des blés mis en œuvre ; de même, nous avons étudié dans quelle mesure certains facteurs externes, de nature agronomique et technologique, étaient susceptibles de modifier les caractéristiques physicochimiques des protéines constituantes des blés et des farines.

Nous avons enfin cherché à relier les propriétés technologiques des farines à leur composition protéique.

I. — TRAVAUX ANTÉRIEURS

C'est à Osborne (1907) que nous devons la première classification des protéines du Blé. Se basant sur les caractéristiques de solubilité des différentes fractions protéiques, cet auteur distingue cinq protéines :

— *une albumine* (0,4 p. 100 du grain) soluble dans l'eau et les solutions salines diluées ;

— *une globuline* (0,6 p. 100 du grain) soluble en milieu salin neutre mais insoluble dans l'eau ;

— *des protéoses* (0,2 p. 100 du grain) qui ne seraient que des produits de dégradation des « protéines solubles » albumines et globulines ;

— *une prolamine*, appelée gliadine (4,5 p. 100 du grain) extraite par l'éthanol aqueux ;

— *une glutéline* (4 p. 100 du grain), nommée gluténine, fraction résiduelle soluble dans les solutions basiques.

Nous ne ferons pas état ici des travaux déjà anciens et maintenant classiques décrits dans les très complètes monographies de Bailey (1944), Blish (1945) et plus récemment Bourdet (1956). Rappelons seulement qu'ils précisent les conditions de solubilité des protéines, démontrent l'insuffisance du fractionnement réalisé par Osborne (1907) (mettant en évidence l'hydrosolubilité de la gliadine) et permettent de conclure à l'hétérogénéité des fractions ainsi extraites.

A mesure que se sont développés les moyens d'investigation, et principalement au cours des quinze dernières années, le matériel protéique s'est révélé extrêmement complexe.

Bien qu'elle soit actuellement abandonnée par de nombreux auteurs qui préfèrent étudier les protéines des céréales dans leur ensemble et les classer selon leur comportement chromatographique ou leur mobilité électrophorétique, la classification d'Osborne servira de cadre à l'exposé des connaissances modernes en ce domaine.

Nous envisagerons donc ici successivement les protéines solubles (albumines et globulines) et celles du gluten (gliadines et gluténine).

I — Protéines solubles

Les albumines et globulines sont classiquement considérées comme seuls constituants des protéines solubles en milieu salin neutre. Dès 1914, Olson (1914) note cependant la présence de gliadines dans des extraits salins ; plus tard, précisant l'action exercée par diverses solutions salines de même concentration sur les solubilités respectives des protéines de la farine de blé, Pence et *al.* (1954 *a*) peuvent

conclure à la supériorité de NaCl 0,5 M, pH 6-7, pour extraire le maximum d'albumines et de globulines avec le minimum de gliadine. Les conditions d'extraction préconisées ces dernières années (tabl. 1) varient cependant encore d'un auteur à un autre, ce qui peut expliquer, en partie, les divergences observées dans les résultats : la nature, la concentration et le pH des solutions salines utilisées, le nombre, la température et la durée des extractions, le rapport farine/solvant, la vigueur de l'agitation, la délipidation préalable de la farine sont autant de facteurs susceptibles de variation. Certains (Mossé et Baudet, 1963) préconisent une extraction exhaustive par l'eau avant un traitement par les sels. Tous ces extraits, étudiés par électrophorèse et chromatographie, révèlent leur extrême complexité.

TABLEAU I

Conditions d'extraction des protéines solubles dans les solutions salines

Auteurs / Conditions expérimentales	Pence (1953)	Coates et Simmonds (1961)	Grabar et *al.* (1962)	Kelley et Koenig (1962)	Graham (1963)	Kaminski (1962)	Gehrke et *al.* (1964)
Nature du sel.....	NaCl	Pyroph. Na	NaCl	NaCl	Pyroph. Na	NaCl	NaCl
Concentration saline	0,5 M	0,01 M	0,5 M	0,1 M	0,01 M	0,2 M	0,015 M
pH d'extraction...	6,8	7,0	7,0	?	7,4	7,0	?
Durée de l'extraction (minutes)	30 à 40	90	120	120	5	300	30
Température d'extraction	?	4°	4°	ambiante	2°	?	ambiante
Nombre d'extractions.....	2	4	1	1	4	1	1
Rapport farine/solvant (g/cc).....	1/8,7	1/2	?	1/4	1/2	1/7,5	1/2
Type d'agitation ..	douce	?	?	?	douce	forte	?
Délipidation préalable	—	+	—	—	+	—	+

A partir de préparations protéiques extraites par l'eau ou différents réactifs salins, Kelley et Koenig (1962) par électrophorèse en veine liquide, Elton et Ewart (1962), Kaminski (1962), et Graham (1963) en gel d'amidon, Nimmo et *al.* (1963) en gel de polyacrylamide, Grabar et *al.* (1962) en immuno-électrophorèse caractérisent de 9 à 23 constituants.

Tout en constatant l'impossibilité d'assigner une zone de migration spécifique à un groupe protéique déterminé, Elton et Ewart (1962) définissent sur les diagrammes électrophorétiques trois zones qui correspondent, par ordre de mobilité croissante aux gliadines, albumines et globulines. Pour Gehrke et *al.* (1964 a), au contraire, il existe une « zone de base » commune aux différents groupes, les albumines et globulines comportant chacune une fraction lente et une fraction rapide.

Par chromatographie sur DEAE-cellulose, Coates et Simmonds (1961) fractionnent un extrait salin pyrophosphate en 10 fractions dont Graham (1963) et Nimmo et *al.* (1963) démontrent l'hétérogénéité par électrophorèse.

Par relargage au sulfate d'ammonium d'un extrait salin, PENCE et ELDER (1953) éliminent les pentosanes et les gliadines contenus dans l'extrait et isolent les albumines d'une part, les globulines d'autre part.

Les ALBUMINES, protéines solubles dans l'eau, ont un poids moléculaire moyen de 28 000 environ ; elles sont fractionnées par PENCE (1953) en 11 constituants par électrophorèse sur papier ; ceux-ci peuvent se répartir en trois groupes en fonction de leur point isoélectrique : le groupe α de pH_i 4,5-4,8 ; le groupe β de pH_i 4,9-5,8 ; le groupe γ de pH_i 6,5-6,8. Elles se caractérisent par une teneur en tryptophane beaucoup plus élevée que celle des autres protéines du blé et par une teneur faible en azote amidé.

Les GLOBULINES, insolubles dans l'eau, ont fait l'objet de peu de travaux en raison de la difficulté de leur isolement et de la faible importance technologique qui leur est généralement attribuée. Par ultracentrifugation, DANIELSON (1949) est le premier à démontrer l'hétérogénéité de cette fraction dans laquelle il met en évidence deux constituants α et γ. ELTON et EWART (1962) confirment ce résultat par électrophorèse en gel d'amidon. Selon DANIELSON (1949), le poids moléculaire de la γ-globuline serait de l'ordre de 210 000. Elles se caractérisent chimiquement par des teneurs faibles en tryptophane et azote amidé et par une teneur élevée en arginine (PENCE et ELDER, 1953).

2 — Protéines du gluten

Le gluten, qui représente environ 80 p. 100 du matériel protéique de la farine, est constitué, selon OSBORNE, de deux protéines, gliadine et gluténine, en proportion sensiblement égale.

L'amélioration des méthodes physicochimiques d'analyse a conduit à repousser cette conception d'un gluten, simple mélange de deux protéines individuelles et à conclure à une bien plus grande hétérogénéité. Sur la nature de cette hétérogénéité, les avis sont eux-mêmes partagés. Pour les uns, le gluten est un complexe formé de quelques protéines distinctes ; pour les autres, qui préfèrent abandonner les termes classiques de gliadine et de gluténine, il est constitué d'un très grand nombre de protéines ne différant que progressivement les unes des autres par leurs propriétés (BROHULT et SANDEGREN, 1954).

Suivant l'idée qu'ils peuvent se faire de la nature du gluten, les auteurs orientent leurs travaux vers deux voies différentes : les uns, supposant l'existence de protéines différenciées, étudient séparément les gliadines et la gluténine ; les autres, au contraire préfèrent travailler sur la totalité du gluten sans rechercher un fractionnement préalable.

Nous envisagerons donc successivement ici les travaux relatifs aux gliadines, à la gluténine et au gluten.

Les gliadines

En raison de la facilité relative de leur mise en solution, les gliadines ont été l'objet de travaux beaucoup plus nombreux que la gluténine.

Protéines solubles dans l'éthanol aqueux, les gliadines ont un poids moléculaire moyen de 40 000. Variable avec les auteurs, leur point isoélectrique se situerait

autour de pH 6,5. Elles se caractérisent par une teneur extrêmement élevée en acide glutamique (45 p. 100 des acides aminés totaux) et par leur richesse en proline (13 p. 100).

Si Haugaard et Johnson (1930) par mesure de viscosité, Krejci et Svedberg (1935) par ultracentrifugation, Lamm et Polson (1936) par mesure des constantes de diffusion mettent déjà en évidence l'hétérogénéité des gliadines, il faut attendre la technique d'électrophorèse en veine liquide pour confirmer ces premières conclusions (McCalla et Gralen, 1942 ; Schwert et *al.* 1944 ; Mills, 1954 ; Holme et Briggs, 1959). L'électrophorèse en gel d'amidon apporte une démonstration décisive : Woychik et *al.* (1961 a) utilisant le tampon lactate d'aluminium de Jones et *al.* (1959) montrent que les gliadines sont constituées de 8 composants qu'ils identifient aux α_2, β, γ et ω gluten tels qu'ils sont définis par ce dernier auteur (tabl. 2).

TABLEAU 2

Comparaison entre les nomenclatures de Jones *et de* Woychick *pour identifier les protéines du gluten*

Jones et *al.* (1959)	Woychick et *al.* (1961)
α_1 gluten	gluténine
α_2 gluten	α_1 et α_2 gliadines
β gluten	β_1-β_4 gliadines
γ gluten	γ gliadines
ω gluten	ω gliadines

Cependant, Gehrke et *al.* (1964 a) considèrent que les fractions α et β gliadines de Woychick ne sont pas spécifiques des gliadines et apparaissent distinctement dans la zone des albumines et des globulines.

Pour Kaminski (1962), la fraction protéique soluble dans l'éthanol 70 p. 100 contient 10 constituants majeurs et des traces de 9 autres fractions présentes en forte proportion dans des extraits salins et aqueux. Elton et Ewart (1962) trouvent des quantités significatives de protéines « solubles dans l'eau » dans des préparations de gliadines. Graham (1963) n'essaye pas de dénombrer les constituants protéiques présents dans un extrait alcoolique et montre que ceux-ci se retrouvent dans un extrait aqueux, salin ou acétique de farine ; il conclut à la non-spécificité de l'extraction alcoolique.

Un travail très récent de Woychick et *al.* (1964) tend à préciser la nature des différentes fractions gliadines. Ces auteurs constatent que la réduction des liaisons disulfures —S—S— de ces fractions conduit à une diminution générale de mobilité électrique de l'ordre de 20 p. 100. Par ailleurs, les constituants α_1, α_2, β_3, β_4 et γ demeurent homogènes en électrophorèse, ce qui tend à montrer que les chaînes polypeptidiques constitutives liées par les groupements —S—S sont identiques ; les fractions β_1 et β_2 qui se dédoublent après réduction, seraient par contre un peu plus complexes.

En résumé, les gliadines semblent donc constituer un mélange hétérogène d'une dizaine de protéines de structure relativement simple et plus ou moins bien caractérisées par leur solubilité dans l'éthanol.

La gluténine

Faute de solvant approprié, peu d'études ont pu être entreprises sur la gluténine. Résidu « insoluble » après extraction des autres types protéiques de la farine, la gluténine aurait un poids moléculaire de 2 à 3 millions (Jones et *al.*, 1961) ; sa composition en acides aminés fait apparaître que, moins riche en acide glutamique et en proline que les gliadines, elle l'est davantage en arginine, lysine et tryptophane.

Elle semble homogène en électrophorèse en veine liquide (Jones et *al.*, 1959) ou en gel d'amidon, milieu dans lequel elle ne migre pas en raison de son encombrement moléculaire (Woychick et *al.*, 1961 a). Ces derniers auteurs l'identifient à l'α_1-gluten de Jones (tabl. 2, p. 14).

Sa structure a été précisée par Woychick et *al.* (1964) ; après réduction des ponts disulfure, la gluténine se résout en 7 fractions de mobilité comparable à celle des gliadines réduites et en une dizaine de constituants présents à l'état de trace, dont la mobilité s'apparente à celle des « protéines solubles ». La gluténine serait donc, selon l'auteur, constituée de plusieurs composants de nature « gliadine » liés entre eux par des liaisons —S—S auxquels s'ajouteraient, en moindre proportion, des composants de nature « protéines solubles ».

Le gluten

Le gluten s'obtient par malaxage d'un pâton de farine sous un mince filet d'eau. Il a des propriétés de cohésion, d'élasticité et d'extensibilité à l'état hydraté qui lui font une place unique parmi les protéines végétales.

Comme il ne peut être isolé dans ces conditions que de la farine de blé et que celle-ci lui doit en grande partie ses propriétés, on comprend toute l'attention que lui ont portée les technologistes. C'est ce qui explique le très grand nombre de travaux qui lui ont été consacrés.

Le gluten n'étant soluble en milieu aqueux qu'à de très faibles forces ioniques ou dans des tampons qui tendent à se combiner à la protéine, son étude présente de nombreuses difficultés. En électrophorèse, Laws et France (1948) et Lontie et *al.* (1954) obtiennent des diagrammes dissymétriques qui ne leur permettent pas de définir avec certitude l'hétérogénéité du gluten. Jones et *al.* (1959), par contre, obtiennent des pics symétriques en utilisant des tampons de faibles forces ioniques ($\mu = 0{,}03$) à pH = 3,1 ; ils fractionnent ainsi le gluten en 4 fractions principales et une mineure, les quelques constituants de grande mobilité apparaissant sur les diagrammes devant être attribués aux protéines solubles incomplètement extraites.

Le pouvoir séparateur supérieur de l'électrophorèse en gel d'amidon montre l'existence de 9 fractions dont l'une, de mobilité nulle, est assimilée par Woychick à la gluténine. Nous avons déjà indiqué la correspondance entre ces résultats et ceux de Jones (tabl. 2. p. 14).

Elton et Ewart (1962) trouvent une composition identique ; Coulson et Sim (1961), par contre, identifient une vingtaine de constituants. En fait, l'opposition

n'est qu'apparente, COULSON considérant les fractions les plus mobiles comme éléments constitutifs du gluten ; GRAHAM (1963) adopte ce point de vue. Que ce soit par électrophorèse sur papier (DESCHREIDER, 1960 ; ZENTNER, 1960), en veine liquide (KOENIG, 1963 ; MEREDITH et *al.*, 1960), en gel de polyacrylamide (LEE, 1963) ou en gel d'amidon (KAMINSKI, 1962), nombreux sont les auteurs qui concluent à cette hétérogénéité.

La complexité du gluten une fois mise en évidence, on a essayé d'isoler ses différents constituants. On sait, depuis longtemps déjà, séparer les gliadines de la gluténine en raison de la solubilité des prolamines dans l'alcool. D'une manière bien plus élégante, évitant toute dénaturation, JONES et *al.* (1963) sur Séphadex G 75 et WRIGHT et *al.* (1964) sur Séphadex G 100 isolent la gluténine qui, en raison de son poids moléculaire très élevé, se sépare des gliadines par filtration moléculaire.

Recherchant un fractionnement plus fin, ELTON et EWART (1963 *a*) tentent de récupérer les fractions séparées par électrophorèse en gel d'amidon par élution continue à travers le gel. Ils arrivent à isoler ainsi des fractions électrophorétiquement homogènes, mais la faible quantité de produits récupérés ne leur permettent pas de pousser plus loin l'analyse.

Seule, la chromatographie sur colonne devait permettre d'isoler suffisamment de matériel. L'insolubilité du gluten à pH 5-6 et dans les solutions de force ionique supérieure à 0,03 rendant impossible l'utilisation des gradients habituels d'augmentation de pH ou de concentration saline, WOYCHICK et *al.* (1960) utilisent des tampons discontinus de pH décroissants : ils fractionnent ainsi sur CMC-cellulose un extrait acétique de gluten et isolent les fractions α_2, β, γ et ω (nomenclature de JONES et *al*, 1959). Ils trouvent des différences significatives dans la composition en acides aminés des fractions isolées.

Toujours sur CMC-cellulose, SIMMONDS et WINZOR (1961) maintiennent le gluten en solution par la diméthylformamide ; ils peuvent alors utiliser un gradient classique de concentration saline et isoler 11 constituants. Étudiant chacune de ces fractions par électrophorèse en gel d'amidon, GRAHAM (1963) montre leur hétérogénéité et constate la présence de bandes communes à plusieurs pics ; GERKHE et *al.* (1964 *b*) aboutissent à des conclusions analogues.

Par filtration sur Séphadex G 75 ou G 100, JONES et *al.* (1963), WRIGHT et *al.* (1964) et GODON et *al.* (1964) scindent le gluten en 4 fractions.

Les nombreux travaux que nous venons de rappeler brièvement, démontrent sans ambiguïté l'hétérogénéité du gluten, permettent de mieux comprendre sa nature, mais ne suffisent pas à expliquer sa structure. Des études de diffractions aux rayons X ont permis à GROSSKREUTZ (1961) de proposer un modèle d'après lequel le gluten serait constitué de couches protéiques séparées par des feuillets lipoprotéiques lui conférant ses caractéristiques physiques.

***

La connaissance que nous avons actuellement des protéines du blé demeure donc très fragmentaire et laisse de nombreuses questions sans réponse :

— Le débat n'est toujours pas tranché entre partisans de la classification d'OSBORNE (conception classique) et partisans d'une théorie plus unitaire selon laquelle il faudrait considérer les protéines du blé comme constitutives d'un seul

grand groupe à l'intérieur duquel les fractions ne diffèreraient que progressivement les unes des autres par leurs caractères de solubilité et leur comportement électrophorétique. Les premiers, utilisant différents solvants, réalisent un fractionnement au moment de l'extraction ; les seconds recherchent une mise en solution aussi simplifiée que possible, n'attribuant de valeur qu'aux séparations chromatographiques ou électrophorétiques.

— Depuis 1954 (Pence et *al.*, 1954 *a*), aucun chercheur n'a systématiquement étudié la composition protéique des extraits salins ni défini les conditions optimum d'extraction des albumines et des globulines sans solubiliser les gliadines. Aucun travail n'a été fait dans ce même sens en ce qui concerne les gliadines et la gluténine. En conséquence, les compositions protéiques publiées sont sujettes à critique, les différents groupes interférant les uns sur les autres dans la majorité des protocoles d'extraction utilisés.

— On peut enfin se demander si le gluten préexiste dans la farine ou si sa formation n'intervient qu'au moment de l'hydratation. Autrement dit, les gliadines et la gluténine sont elles étroitement liées ou bien indépendantes.

I. — TRAVAUX PERSONNELS

Le travail que nous avons entrepris sur la composition protéique du blé en fonction des facteurs génétiques, agronomiques et technologiques, nous imposait d'étudier, au préalable, les propriétés physicochimiques des protéines analysées.

L'analyse bibliographique que nous venons de faire a montré combien nos connaissances sur des problèmes apparemment aussi simples que ceux posés par la solubilité des protéines du blé, étaient encore fragmentaires. Il n'est donc pas surprenant que les avis soient encore plus partagés sur leur comportement électrophorétique ou chromatographique.

Dans la première partie de ce travail, nous avons donc cherché à préciser les caractères de solubilité des fractions protéiques afin de pouvoir définir un protocole d'extraction qui réalise un fractionnement aussi quantitatif que possible.

Nous nous sommes ensuite efforcé de caractériser les fractions isolées par leur composition chimique, leur comportement électrophorétique et chromatographique.

L'étude de leur évolution au cours de la maturation du grain nous a ensuite aidé à mieux comprendre les relations existant entre ces fractions, dans le grain mûr et ses produits de réduction.

Dans une deuxième partie, nous nous sommes intéressé aux différences de constitution protéique constatées dans le grain :

— en fonction de l'origine génétique des blés, en comparant plusieurs variétés de blé tendre et de blé dur ;

— en fonction des traitements agronomiques, en étudiant l'influence de l'alimentation en eau, de l'apport d'azote tardif et de soufre.

Dans la troisième et dernière partie, nous avons enfin précisé l'influence du type de mouture (mouture industrielle classique ou procédé de turboséparation) sur la composition protéique des farines et tenté de relier la qualité technologique des farines à celle-ci.

I. — MATÉRIEL D'ÉTUDE

Nous proposant de détailler à l'occasion des différents chapitres les caractéristiques des échantillons analysés, nous nous limiterons à exposer ici les principes généraux qui ont guidé notre choix ainsi que les conditions de culture et les méthodes de conditionnement communes à la majorité des échantillons.

— Pour mieux préciser l'influence des facteurs étudiés, nous avons choisi des échantillons aussi différents que possible. C'est ainsi que nous avons été conduit à incorporer dans ce travail des blés d'origine américaine dont la richesse azotée et les

propriétés technologiques s'étalent sur une gamme bien plus large que celle qu'auraient pu fournir les blés français.

— Excepté la farine industrielle extraite d'un mélange de différents lots commerciaux de grande culture, tous les échantillons étudiés sont des blés d'origine génétique connue (variétés pures ou hybrides) cultivés en pots de végétation ou en parcelles d'expérimentation.

Le plus souvent, lorsque le poids d'échantillon dont nous avons pu disposer était suffisant, les analyses ont porté sur la farine. La mouture a été effectuée :

— soit sur un moulin de laboratoire (Buhler) aux taux d'extration de 70-72 p. 100 en moyenne ;

TABLEAU 3

Liste et caractéristiques générales des échantillons étudiés

Origine	Nombre	Nature	Caractéristique générales	Facteurs étudiés
U. S.	10	Farine	10 variétés différentes : 8 blés tendres et 2 blés durs	Caractéristiques physico-chimiques des groupes protéiques. Différenciation génétique.
INRA 62-15	11	Grain	1 blé tendre dont on a réalisé 11 prélèvements au cours de la maturation	Évolution au cours de la maturation.
Cappelle	6	Farine	1 blé tendre : 2 années et 4 lieux de culture différents (culture en champ).	Différenciation génétique. Influence des conditions de culture.
Heurtebise	6	Farine	1 blé tendre : 2 années et 4 lieux de culture différents (culture en champ).	*idem*
Montferrier(1) *Étoile de Choisy*(2) (1) × (2) (2) × (1)	4	Farine	1 blé dur, 1 blé tendre et les deux hybrides interspécifiques correspondants	Différenciation génétique.
Progress	8	Grain	1 blé tendre : nutrition minérale variée (culture en pots)	Influence des conditions de culture. Différenciation génétique.
Montferrier	8	Grain	1 blé dur : nutrition minérale variée (culture en pots)	*idem*
Farines industrielles	11	Farine	blés tendres (mélange) : traitements technologiques différents.	Influence des traitements technologiques.

— soit sur des moulins industriels.

Par contre, les blés cultivés en pots (dont nous n'avions que 10 g) ainsi que les blés récoltés en cours de maturation (dont l'état rendait la mouture impossible) ont été étudiés sur la totalité du grain broyé (broyage à l'aide d'un petit moulin à noix en présence de neige carbonique).

Le matériel a été conservé au froid à l'état sec afin de réduire les possibilités d'évolution avec le vieillissement.

Les échantillons, dont nous donnons la liste tableau 3, sont caractérisés par leur origine (variété, lieu, année et conditions de culture), leur humidité et leur richesse azotée.

II. — MÉTHODES EXPÉRIMENTALES

Extraction des différents groupes protéiques

Pour des raisons que nous justifierons et discuterons plus loin (p. 32), le processus d'extraction que nous avons retenu est le suivant.

Extraction des protéines solubles

Dix grammes de farine (poids sec) sont mis en suspension dans 70 cc d'une solution saline NaCl 0,5 M amenée à pH 6,8 par du phosphate disodique. Après un repos d'une heure au froid (2-4°C), on recueille le surnageant après centrifugation ; le culot est lavé deux fois successivement par 40 cc de solution saline. L'extrait total (surnageant et lavages) contient avec les protéines ainsi solubilisées de l'azote non protéique qu'une dialyse permet d'éliminer.

L'extrait salin obtenu est dialysé 2 jours contre l'eau courante, puis 2 jours contre l'eau distillée. On sépare alors par centrifugation le précipité formé :

— le surnageant est lyophilisé tel quel (albumines),

— le précipité (globulines) est lavé plusieurs fois par l'eau pour éliminer les constituants hydrosolubles, puis lyophilisé.

La lyophilisation de la totalité de l'extrait salin après dialyse donne les « albumines-globulines ».

Extraction des protéines du gluten

La farine traitée par NaCl 0,5 M est remise en suspension dans 50 cc. d'éthanol 60 p. 100 (titre final en alcool compte tenu de l'hydratation de la farine).

Après repos d'une nuit au froid, les gliadines (fraction alcool soluble) sont extraites pendant 2 heures en présence de billes de verre (70 billes environ de diamètre 4 mm) dans un agitateur à secousses (Griffin et George — 280 secousses par minute). On recueille la phase alcoolique après centrifugation. Le résidu, lavé deux fois par 20 cc. d'éthanol 60 p. 100, est traité à nouveau par 50 cc. d'éthanol 60 p. 100 (1 heure d'extraction — agitation Griffin). Après deux autres lavages du culot résiduel par 20 cc. d'éthanol 60 p. 100, on réunit tous les extraits alcooliques. La solution obtenue, très légèrement trouble, est dialysée (2 jours contre l'eau courante, 2 jours contre l'eau distillée), puis lyophilisée.

Le résidu est repris par 50 cc. de monochlorhydrine du glycol (GMC) à 30 p.100 d'eau et laissé reposer une nuit. Après une première extraction (2 heures au Griffin),

on reprend le culot par 50 cc de GMC 30 p. 100 (1 heure d'agitation). Après deux lavages par 20 cc. de GMC 30 p. 100, on réunit et dialyse (contre l'eau) tous les extraits, puis on lyophilise.

Nous avons représenté le schéma d'extraction dans la figure 1 suivante :

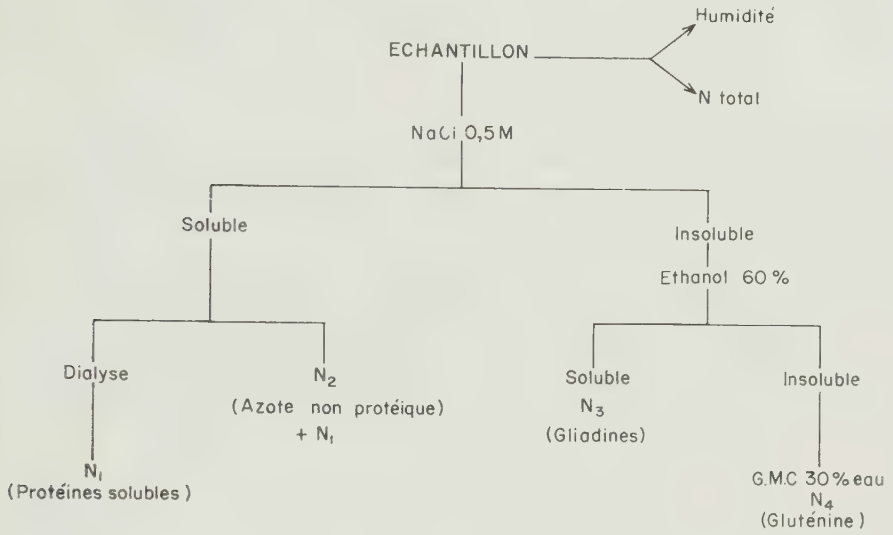


Fig. 1. — *Schéma d'extraction des protéines du blé*

— l'azote N_1 correspond aux protéines solubles (albumines et globulines légèrement souillées de gliadines)

— N_2-N_1 est l'azote non protéique

— N_3 correspond aux gliadines

— N_4 correspond à la gluténine. En raison de la présence de GMC, la minéralisation est très difficile. Après avoir vérifié que la gluténine était totalement soluble dans la GMC, on a, le plus souvent, calculé N_4 par différence entre l'azote total de l'échantillon et la somme (N_2 + N_3) de l'azote préalablement extrait.

Ainsi pratiquée, l'extraction des protéines du blé aboutit à un fractionnement en 4 groupes, définis conformément à Osborne par leur caractère de solubilité.

Fractionnement des différents groupes protéiques
Électrophorèse et chromatographie

Il existe aujourd'hui de nombreuses méthodes de séparation des protéines dont les plus courantes sont l'électrophorèse et la chromatographie. Nous les avons utilisées toutes les deux au cours de ce travail.

Électrophorèse sur papier

Si l'électrophorèse sur papier a rendu de nombreux services, elle est actuellement pratiquement abandonnée au profit d'autres supports plus efficaces tels que les gels d'agar, de polyacrylamide, et d'amidon ou l'acétate de cellulose.

En raison de la relative facilité de sa mise en œuvre, nous avons cependant essayé, après ZENTNER (1960) et DESCHREIDER (1960), de l'appliquer au fractionnement des protéines du gluten.

Nous avons utilisé différents papiers (Whatman n° 1 et n° 3, Schleicher Schull n° 598 et n° 2048), différents tampons (lactate propionate selon GELLER et *al.* (1960) de pH 2,6 à pH 3,2 et de forces ioniques variables — lactate d'aluminium selon JONES et *al.* (1959) à pH 3,1) ; nous avons fait varier les conditions de dépôt, de voltage, et de révélation.

La meilleure résolution obtenue (tampon lactate-propionate pH 2,6 — $\mu = 0{,}02$ — 8,5 V/cm — 15 h.) n'a pas permis de distinguer plus de 4 constituants à partir de la gliadine (fig. 2) alors que l'électrophorèse en gel d'amidon devait en mettre plus de 15 en évidence (fig. 13, p. 47).

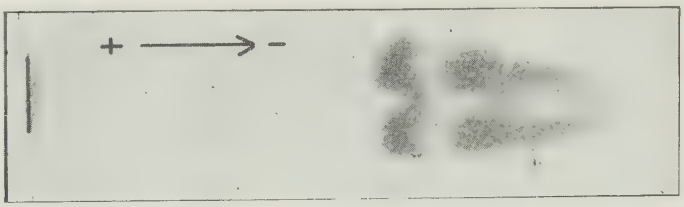


FIG. 2. — *Électrophorèse sur papier de la gliadine*
(tampon lactate-propionate ; pH = 2,6 ; $\mu = 0{,}02$; 8,5 V/cm ; 15 h.).

En dépit des avantages techniques offerts par cette méthode, nous l'avons donc abandonnée au profit de l'électrophorèse en gel d'amidon.

Électrophorèse en gel d'amidon

L'électrophorèse en gel d'amidon, inventée par SMITHIES (1955), a connu ces dernières années un essor considérable en raison de son pouvoir séparateur inégalé ; on explique la qualité des résultats obtenus avec ce support par la porosité du gel qui ajoute à l'effet purement électrophorétique une filtration moléculaire.

Appliquée pour la première fois aux protéines des céréales par ELTON et EWART (1960) elle a été utilisée par la suite par COULSON et SIM (1961), ELTON et EWART (1962), GEHRKE et *al.* (1964 *a*), GRAHAM (1963), KAMINSKI (1962), WOYCHICK et *al.* (1961 *a*). Nous l'avons nous-même utilisée dans les travaux qui ont marqué la première étape de ce travail (BOURDET et *al.*, 1963 ; FEILLET et BOURDET, 1964).

Nous nous sommes efforcé de préciser et de standardiser au maximum les conditions expérimentales, l'expérience ayant montré que de très faibles différences dans les conditions de préparation et de coloration du gel modifiaient profondément la qualité des séparations.

Nous envisagerons successivement les points suivants : matériel — nature des tampons — préparation du gel — dépôt des échantillons — conditions de migration — coloration — évaluation quantitative.

a) *Matériel.*

Nous avons utilisé :

— Un générateur de tension « C.N.R.A. » qui débite de 0 à 200 mA sous 0 à 750 volts.

— Des cuves « Pleuger » dont l'originalité réside dans le remplacement des ponts de papiers habituels par des ponts de gel moulés directement dans la cuve au moment de la préparation du gel. Les contacts électriques sont ainsi améliorés et les risques d'échauffement diminués. Elles permettent d'obtenir un gel de 6 mm. d'épaisseur, 32 cm de long, 12 ou 24 cm de large. La cuve la plus large présente l'avantage de supprimer le plus possible les effets de bord.

b) *Nature des tampons.*

Nous avons testé les tampons tartrate (pH 2,3), lactate d'aluminium (pH 3,0 — 3,25 — 3,45), acétate de sodium (pH 4,2 — 5,1 — 6,2), phosphate monopotassique — disodique (pH 7,0), *tris*-hydroxyméthylaminométhane ou *TRIS* (pH 8,9), borate (pH 9,3). Pour chaque tampon, nous avons maintenu la force ionique très bas (de l'ordre de 0,005) pour éviter la précipitation des protéines et permettre l'emploi de voltages importants sans risque d'échauffement pouvant modifier la structure du gel.

Nous avons précisé l'influence de l'urée dans les tampons et vérifié qu'à la concentration de 0,5 M elle améliorait la résolution sans la modifier.

Les tampons [1] retenus en raison de la qualité de la séparation sont les suivants :

tampon lactate d'aluminium (pH 3,25, urée 0,5 M)
tampon *TRIS* (pH 8,95, urée 0,5 M).

c) *Préparation du gel.*

Les détails de l'expérimentation, résumés ci-dessous, sont donnés tableau 4. La quantité juste suffisante d'amidon (amidon Connaught — Université de Toronto) pour permettre la prise en masse du gel lors du refroidissement est mise en suspension dans le tampon (dans un ballon de 3 l.). Le mélange est porté à ébullition pendant plusieurs minutes en maintenant une agitation mécanique très énergique (180 va-et-vient à la minute). Après 2 minutes de dégazage, le gel est coulé dans les cuves et laissé refroidir une heure à la température du laboratoire.

d) *Dépôt des échantillons.*

Des trois méthodes décrites par Smithies (1955) (insertion d'un papier imbibé de solution, dépôt dans une cuvette préparée dans le gel, soit de la solution telle quelle, soit de la solution mélangée à de l'amidon pour former une pâte), nous avons retenu la première.

Celle-ci s'est révélée en effet la meilleure, la finesse de la zone de dépôt condi-

[1] Ces deux tampons sont préparés de la manière suivante :

— Une solution de *lactate d'aluminium* est obtenue selon Jones et Cluskey (1963) : on active 10 g d'aluminium en copeaux en les plongeant quelques secondes dans 100 cc d'une solution de chlorure mercurique à 1 p. 100. Après un lavage abondant à l'eau distillée, on transvase l'aluminium activé dans un bécher de 2 000 cc et on ajoute 1 000 cc d'une solution d'acide lactique à 178 g par litre. On laisse la réaction se développer pendant 6 heures au moins (jusqu'à l'arrêt du dégagement gazeux) et on filtre sur buchner. On amène la solution à 2 000 cc par de l'eau désionisée. La solution, grisâtre, se clarifie au bout de quelques jours.

On prépare le tampon lactate en mélangeant 4 cc de la solution de lactate d'aluminium ainsi préparée, 5 cc d'acide lactique diluée 10 fois, 30 g d'urée et en complétant à 1 000 cc par de l'eau désionisée.

— On prépare une solution-mère de *TRIS* en mélangeant 60,5 g de *TRIS* (*tris*-hydroxyméthylaminométhane), 6 g d'EDTA (éthylènediaminetétracétique) et 4,6 g. d'acide borique et en complétant à 1 000 cc par de l'eau désionisée.

Le tampon *TRIS* est réalisé en ajoutant 30 g d'urée à 65 cc de la solution-mère et en complétant à 1 000 cc par de l'eau désionisée.

TABLEAU 4

Électrophorèse en gel d'amidon : conditions expérimentales

Nature de la préparation	Nature du tampon	Dimensions des cuves (mm)	Poids d'amidon (g)	Volume du tampon (cc)	Volume d'eau (cc)	Durée du chauffage (min)	Durée et voltage du précourant	Dépôt	Conditions de migration
Albumines	Lactate	120 × 320	33	350	60	6	4 h. 30 8 V/cm	25 µl solution à 4% protéine dans GMC 75% eau	2 h. 15 8 V/cm
		240 × 320	66	700	80	7			2 h. 30 8 V/cm
	tris	120 × 320	40	350	80	6	2 h. 8 V/cm	2 × 25 µl solution à 4% protéine dans GMC 75% eau	4 h. 10 V/cm
		240 × 320	84	700	100	7	2 h. 8 V/cm		4 h. 30 10 V/cm
Globulines	Lactate	Mêmes conditions que pour les albumines					4 h. 30 8 V/cm	2 × 25 µl solution à 4% protéine dans HCl 0.2N	2 h. 30 8 V/cm
Gliadines	Lactate	120 × 320	33	350	60	6	2 h. 8 V/cm	25 µl solution à 2,5% protéine dans GMC 75% eau	4 h. 30 8 V/cm
		240 × 320	66	700	80	7			4 h. 30 8 V/cm
	tris								ne migre pas
Gluténine									ne migre pas

TABLEAU 5

Estimation densitométrique des fractions protéiques : reproductibilité de la méthode

Gel	A				B
Dépôt n° / Fractions	I	II	III	IV	V
traînée au départ	2,4	3,1	3,0	1,4	4,2
1	1,0	1,4	1,5	1,1	1,5
2	1,7	2,2	2,8	2,3	2,5
3	2,6	2,0	3,5	2,5	2,7
4	4,1	4,4	4,7	4,0	4,5
5	2,5	3,2	3,2	2,8	3,2
6	4,3	3,9	4,5	4,9	3,7
7	2,9	5,2	4,8	3,8	2,2
8	9,9	10,2	8,0	10,5	11,3
9	14,2	13,1	14,2	13,0	13,7
10	8,2	8,5	7,8	8,1	5,4
11	18,0	18,6	17,5	19,0	15,5
12	9,6	6,6	7,5	8,5	7,8
13	8,8	7,8	7,9	9,0	9,1
14	9,8	9,8	9,1	9,1	12,7

TABLEAU 6

Surface d'absorption des pics obtenue par densitométrie des diagrammes électrophorétiques, en fonction de la quantité de protéines déposées

(came D du chromoscan)

Dépôt γ/cm²	890		445		222	
Fractions	Surface des pics	p. 100 gliadines	Surface des pics	p. 100 gliadines	Surface des pics	p. 100 gliadines
traînée au départ	44	4,2	22	4,3	13	5,3
1	16	1,5	8	1,6	3	1,2
2	26	2,5	9	1,8	5	2,0
3	28	2,7	8	1,6	5	2,0
4	47	4,5	14	2,7	6	2,4
5	33	3,2	9	1,8	7	2,8
6	39	3,7	14	2,7	8	3,2
7	23	2,2	12	2,3	11	4,5
8	119	11,3	57	11,2	24	9,7
9	144	13,7	70	13,7	35	14,2
10	57	5,4	34	6,7	15	6,1
11	163	15,5	83	16,3	39	15,8
12	82	7,8	45	8,8	18	7,3
13	96	9,1	53	10,4	23	9,3
14	133	12,7	72	14,1	35	14,2
Total	1 050	100	510	100	247	100

tionnant la qualité de la séparation. Son défaut est de nécessiter des solutions relativement concentrées. Il est important d'utiliser des papiers parfaitement calibrés afin d'obtenir des résultats reproductibles (papier Whatman n° 3 : 1,5 × 0,5 cm).

La quantité de protéines déposées est de 800 γ par cm² de section de gel pour les gliadines ; pour les albumines, elle est de 1 300 γ en milieu acide et de 2 600 γ en milieu basique.

e) *Conditions de migration.*

Vu les différences de mobilité de chaque groupe protéique, les conditions de migration varient d'un groupe à l'autre. Celles-ci sont rapportées tableau 4.

Avant le dépôt, le gel est « stabilisé » par passage du courant pendant 2 heures à 4 h. 30 sous 8 V/cm, suivant la protéine étudiée.

f) *Coloration.*

Le gel, coupé en deux dans le sens de l'épaisseur est laissé une nuit dans une solution de nigrosine à 0,5 p. 1000 dans l'acide acétique 50 p. 100. Après coloration, le gel est lavé par l'éthanol 75 p. 100 afin d'éclaircir le fond et de le rendre plus rigide.

Nous avons vérifié que les bandes colorables par la nigrosine l'étaient également par le bleu de bromophénol ou l'*amidoschwartz*, mais avec beaucoup moins d'intensité et de netteté.

g) *Évaluation quantitative des fractions.*

Après coloration et fixation du gel, l'intensité des bandes est mesurée par densitométrie en lumière réfléchie (densitomètre-intégrateur Chromoscan — Joyce Lœbl). La surface de chaque pic est évaluée, puis exprimée en pourcentage de la surface totale d'absorption du diagramme étudié. On a ainsi une estimation des proportions respectives de chaque fraction de la protéine analysée.

Nous donnons, figure 3, un exemple de cette mesure.

Nous avons vérifié que, dans nos conditions expérimentales :

— Les résultats sont reproductibles : c'est ce qui ressort du tableau 5 où sont rapportées les valeurs obtenues avec 5 dépôts identiques dans deux gels différents. Si l'erreur relative est souvent importante pour les fractions les moins concentrées, l'erreur absolue reste à peu près constante et représente en moyenne 2 unités.

— La coloration obéit à la loi de Beer. Ayant déposé 25 µl de 3 solutions de gliadines de concentration respective 2,67 p. 100 — 1,33 p. 100 — 0,67 p. 100 (rapport 1 — 1/2 — 1/4), nous constatons en effet que les valeurs des surfaces d'intégration sont sensiblement dans les mêmes rapports (tabl. 6).

Dans nos conditions expérimentales, une surface d'absorption de 100 correspond à 115 γ de gliadines par cm² de section de gel et à 150 γ d'albumines (came C du chromoscan).

En raison de l'impossibilité d'isoler les différents composants des albumines ou des gliadines, on a dû supposer que, dans un même groupe, le pouvoir de fixation du colorant était le même pour chaque composant ce qui est vraisemblable en raison de leurs caractéristiques physicochimiques très voisines.

h) *Présentation des résultats.*

En raison de la complexité de la séparation et de la difficulté qui en découle pour comparer divers échantillons nous avons recherché une présentation simplifiée des résultats. A cet effet, nous avons regroupé les fractions en zones de mobilité (0 à 1, 1 à 2,... m à $m + 1$,... $cm^2\ sec^{-1}\ volt^{-1}\ 10^{-5}$) et calculé la distribution protéique de l'échantillon étudié à l'intérieur de chacune de ces zones. La figure 3 se réduit

	Surface des pics	p. 100 gliadine
	—	—
A	22	2,0
B	21	2,0
C	60	5,5
D	16	1,5
E	29	2,5
F	65	6,0
G	26	2,5
H	256	23,5
I	59	5,5
J	135	12,5
K	211	13,5
L	74	7,0
M	53	5,0
N	28	2,5
O	25	2,5
	1080	100,0

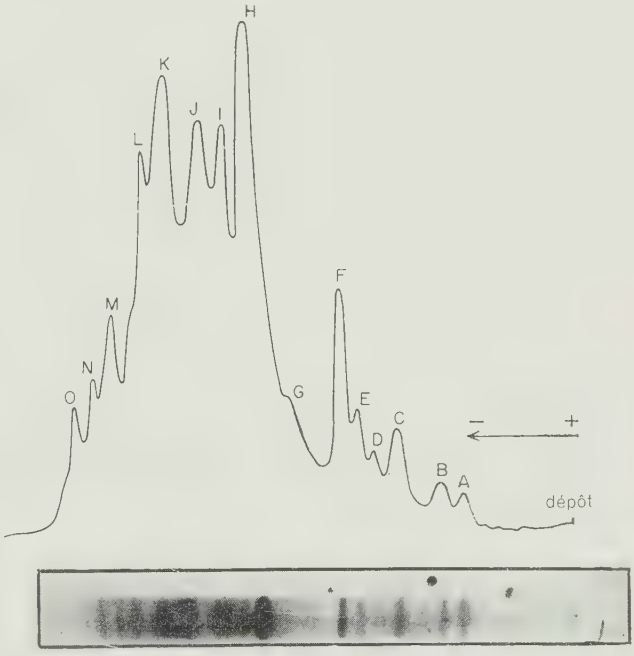


Fig. 3. — *Exemple d'estimation densitométrique des constituants des gliadines séparés par électrophorèse*

alors au graphique ci-dessous où l'abscisse représente la mobilité et l'ordonnée la distribution protéique en p. 100 de la protéine (fig. 4).

Nous avons également défini la mobilité moyenne M du groupe protéique étudié par l'expression

$$M = \frac{\Sigma Xa}{100}$$

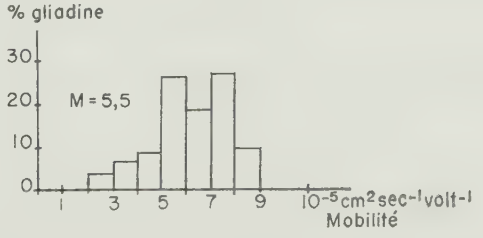


Fig. 4. — *Exemple de représentation simplifiée de la composition électrophorétique des gliadines.*

a étant la distribution protéique dans l'intervalle de mobilité m à $(m+1)$ 10^{-5} cm^2 sec^{-1} $volt^{-1}$ et X étant égal à $\frac{m+(m+1)}{2}$ 10^{-5} cm^2 sec^{-1} $volt^{-1}$

On peut ainsi comparer grossièrement deux protéines dont le comportement électrophorétique est voisin.

Chromatographie sur Séphadex

Préparation de la colonne.

80 g de Séphadex G 25 sont mis en suspension dans 500 ml. d'eau distillée. Après un repos d'une nuit, durant lequel les particules de Séphadex s'imbibent d'eau, gonflent et sédimentent, le surnageant est éliminé. Après 5 lavages successifs par 200 ml d'eau distillée, la suspension de Séphadex dans l'eau est versée dans la colonne remplie d'eau distillée et surmontée d'un entonnoir.

Une fois tassée (12 heures de repos), la colonne est lavée par de l'eau distillée jusqu'à ce que l'absorption UV (280 mμ) de l'éluat soit nulle.

La colonne ainsi formée a 50 cm de haut et 3 cm de diamètre.

Elle est régénérée par lavage à la soude 0,05 N, puis à l'eau distillée.

Protéines déposées.

On dépose sur la colonne 25 cc d'un extrait salin de farine (100 cc. de solvant pour 50 g de farine) contenant environ 200 mg de protéine, après un repos au froid de 10 jours minimum pour clarifier la solution (en présence de thymol pour éviter les contaminations).

Élution.

Elle est réalisée par une solution 0,5 M NaCl. L'éluat est recueilli par fraction de 20 cc à raison de 5 fractions à l'heure.

Analyse des fractions.

L'absorption de l'éluat est mesurée soit en continu à 254 mμ à l'absorptiomètre Uvicord (appareil de mesure automatique ne travaillant qu'à cette longueur d'onde), soit sur chaque tube à 280 mμ au spectrophotomètre Jobin et Yvon.

Les fractions d'un même pic sont ensuite réunies, dialysées, lyophilisées et étudiées par électrophorèse. L'azote total de chaque pic est dosé par Kjeldhal.

La concentration en NaCl est mesurée par titrage par $AgNO_3$ (0,05 N).

Autres méthodes analytiques et expérimentales

Humidité

L'humidité des grains broyés, des farines ou des préparations lyophilisées est déterminée par pesée avant et après un séchage de 90 mn à 130°, ainsi que le font généralement les chimistes des céréales.

Azote

L'azote est dosé selon la méthode Kjeldahl. Le catalyseur utilisé est le mélange $CuSO_4$-K_2SO_4 dans le rapport 1 /10. L'ébullition est maintenue 3 heures après décoloration. Le distillat est recueilli dans l'acide borique.

Phosphore

Le phosphore est dosé suivant la microméthode colorimétrique de Briggs (1922) adaptée par Macheboeuf et Delsal (1943). La détermination est effectuée à l'aide de l'électrophotomètre de Meunier.

Acides aminés

Les acides aminés sont séparés et dosés à l'auto-analyseur Technicon (méthode de Moore et Stein (1954) (1).

Lipides

Selon la nature des préparations isolées, les lipides sont extraits, soit par l'éther (à l'ébullition) et le butanol aqueux (à température ordinaire), soit par le mélange éthanol-éther (3 v/1 v) (à l'ébullition). Les extraits bruts sont remis en solution dans le chloroforme anhydre, filtrés, évaporés, séchés sous vide et pesés. Le phosphore lipidique est déterminé sur une partie aliquote des lipides purifiés.

Dosage des acides nucléiques

La méthode établie par Ogur et Rosen (1950) pour déterminer les deux types d'acides nucléiques (ARN et ADN) dans les tissus végétaux par solubilité différentielle en milieu perchlorique fait intervenir un traitement préalable à froid ($HClO_4$ 0,2 N) visant à éliminer les constituants non nucléiques.

L'application de cette méthode à certaines préparations protéiques isolées a révélé qu'une fraction non négligeable de constituants nucléiques, y compris de l'ADN, passe en solution lors de ce traitement préliminaire à froid ; ceci nous a conduit à supprimer cette première phase de l'opération et à déterminer les deux types d'acides nucléiques sur l'extrait perchlorique obtenu après épuisement à chaud des préparations en milieu 0,5 N.

L'ADN a été dosé par la réaction colorée de Dische (1930) à la diphénylamine, en présence d'acétaldéhyde selon la technique plus sensible décrite par Burton (1956), les résultats étant calculés à partir d'une courbe-étalon établie à l'aide d'ADN purifié (extrait du thymus).

L'ARN n'a pu être déterminé spécifiquement par l'intermédiaire du ribose, par suite d'une hydrolyse partielle des pentosanes contenus dans les préparations protéiques étudiées.

Les *acides nucléiques* totaux ont été dosés par spectrophotométrie UV à 260 mμ des extraits perchloriques 0,5 N convenablement dilués, les densités optiques

(1) Nous sommes heureux de remercier ici M. Fauconneau et M. Pion qui ont bien voulu effectuer ces dosages dans leur laboratoire (C. N. R. Z., Institut national de la Recherche agronomique, Jouy-en-Josas).

étant rapportées à une courbe-étalon établie à partir d'un échantillon purifié d'ARN de levure.

Pour certaines préparations, le spectre UV des extraits perchloriques a présenté un maximum plus ou moins décalé vers les longueurs d'onde plus élevées (265 ou 270 mμ), par suite d'une solubilisation partielle du matériel protéique au cours de l'extraction à chaud. Cette interférence des protéines n'en demeure pas moins limitée et n'affecte pas de façon significative les résultats obtenus.

En définitive, *l'ARN* est estimé par différence en soustrayant les valeurs ADN des valeurs acides nucléiques totaux ainsi déterminées.

Identification des constituants nucléiques de la globuline

Les acides nucléiques liés aux nucléoprotéines sont extraits à l'état de nucléates par NaCl 10 p. 100 à chaud selon la méthode décrite par Tyner et *al.* (1953). On précipite ensuite les nucléates par l'éthanol.

Les nucléates isolés sont hydrolysés 20 h. à 30° par NaOH 0,5 N, selon Schmidt et Thanhauser (1945). On sépare l'ADN, non dégradé, des nucléotides de l'ARN hydrolysé en neutralisant la solution basique par HCl et en ajoutant de l'acide trichloracétique jusqu'à un titre final en ATC de 10 p. 100. L'ADN, recueilli par centrifugation, est hydrolysé en ses quatre bases par $HClO_4$ 70 p. 100 (1 h à 100°C).

On peut également traiter directement la préparation ou les nucléates qui en sont extraits par HCl N, pendant 1 h, en tube scellé. On libère ainsi les deux bases puriques de l'ARN et de l'ADN et les deux nucléotides pyrimidiques de l'ARN (Smith et Markham, 1950).

Les bases et les nucléotides libérés sont identifiés par chromatographie ascendante sur papier Whatman n° 1 dans le solvant de Smith et Markham (1950) : butanol 3° — HCl 6 N (7 v/3 v).

Des hydrolysats d'ARN (par HCl N — 100° — 1 h.) et d'ADN (par $HClO_4$ 70 p. 100 — 100° — 1 h.) purifiés sont utilisés comme marqueurs.

On détermine la position des taches par photographie en UV.

Dialyse

Les solutions sont transvasées dans des tubes de viscose en présence de quelques cristaux de thymol, afin d'éviter les dégradations microbiennes, puis laissées dialyser au froid pendant 2 jours contre l'eau courante et 2 jours contre l'eau distillée fréquemment renouvelée.

Lyophilisation

Les solutions dialysées sont congelées dans un mélange éthanol-neige carbonique (— 60°C), puis lyophilisées. Le produit obtenu a une teneur en eau moyenne de 5 à 6 p. 100.

Détermination des caractéristiques technologiques

Teneur en gluten

La teneur en gluten sec a été déterminée dans les conditions classiques, par extraction manuelle à l'eau du robinet.

Indice alvéographique

La mesure de l'indice alvéographique, exprimé en W, a été effectuée selon le protocole expérimental défini par Chopin (1937), exception faite du taux d'extraction des farines. Représentant le travail nécessaire à la déformation d'une éprouvette de pâte, dans des conditions rigoureusement déterminées, cet indice rend compte de la ténacité et de l'extensibilité de celle-ci.

Indice de sédimentation

L'indice de sédimentation de Zeleny a été examiné dans les conditions décrites par Pinckney et *al.* (1957), l'agitation des cylindres étant faite à la main. La teneur en eau des farines étant voisine de 14 p. 100, aucun coefficient de correction n'a été appliqué et les valeurs de sédimentation indiquées concernent l'indice brut I.S.

III. — RÉSULTATS ET DISCUSSION

Étude physicochimique des protéines du blé

Contrairement à de nombreuses protéines animales, celles du blé ne sont pas naturellement en solution. Elles sont mélangées, en proportions variables (12 p. 100 s. s. [1] en moyenne) à un milieu très complexe, constitué en majeure partie d'amidon (80 p. 100 s. s.) et peu hydraté (12 p. 100 d'eau en moyenne).

Leur étude nécessite donc leur extraction préalable à l'état de solutions ou de dispersions.

Afin de pouvoir préciser quelques-unes de leurs propriétés physicochimiques, nous avons donc tenté de définir les meilleurs conditions d'isolement de ces protéines.

On a vérifié que les résultats présentés dans ce chapitre, illustrés par des exemples particuliers, étaient généralisables à la totalité des blés étudiés.

Isolement de différents groupes protéiques. Mise au point d'un protocole d'extraction spécifique.

Les travaux de différents auteurs montrent à quel point les conditions d'extraction peuvent modifier la composition et l'importance relative des groupes protéiques extraits.

Nous avons donc été conduit à définir un protocole d'extraction (p. 20) qui satisfasse, autant que possible, aux conditions suivantes :

— être reproductible ;
— permettre l'isolement du matériel protéique dans sa totalité ;
— réaliser un fractionnement primaire des produits isolés.

Notre schéma expérimental s'inspire de celui d'Osborne. Il est fondé sur la solubilité différentielle des groupes, et consiste en des traitements successifs de la farine par une solution saline, l'éthanol aqueux et la monochlorhydrine du glycol.

Nous envisagerons ici successivement l'action exercée par chacun de ces trois solvants.

Anticipant sur les conclusions auxquelles nous ont conduit les études menées simultanément en électrophorèse (p. 45), indiquons dès à présent que chaque groupe protéique peut être caractérisé par sa mobilité électrique en milieu acide (pH = 3,2). Le comportement électrophorétique à ce pH des différents groupes illustré par la

(1) L'abréviation s.s. représente la substance sèche.

figure 5, a constitué, en effet, au cours de nos études, le critère fondamental de leur identification.

On a pu définir ainsi la constitution protéique de chacun des extraits et mieux préciser, de ce fait, la nature des protéines étudiées.

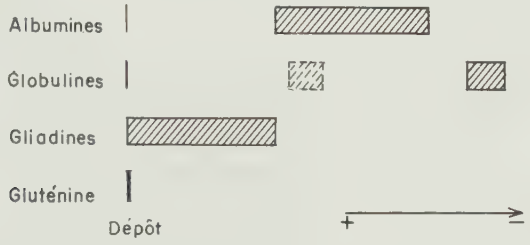


FIG. 5. — *Comportement électrophorétique des différents groupes protéiques de la farine en milieu acide* (pH = 3,2)

A. *Groupe des albumines-globulines*

a) *Isolement des protéines solubles.*

La plupart des auteurs reconnaissent la solubilité des gliadines dans les solutions salines, mais peu d'études systématiques ont été entreprises pour réduire celle-ci le plus possible, faute de méthode spécifique.

PENCE et *al.* (1954 *a*) ont cherché à déterminer la nature du sel capable d'extraire le maximum d'albumines et de globulines en solubilisant le minimum de gliadines. A cet effet, PENCE a estimé les proportions des groupes protéiques présents dans des extraits de sels différents, de concentration 0,5 M, par une méthode indirecte basée sur la teneur en tryptophane et en azote amidé de ces protéines. Les résultats l'ont amené à conclure à la supériorité de NaCl sur les autres sels étudiés.

La possibilité d'identifier les protéines extraites d'après leur comportement électrophorétique nous a permis d'apporter des précisions plus directes aux observations de PENCE, particulièrement en ce qui concerne les proportions de gliadines solubilisées comparativement à celles des albumines-globulines.

A cet effet, nous avons fait varier :

— le rapport farine/solvant : 1/4 — 1/7 — 1/14 ;
— la durée de l'extraction : 10 mn — 1h — 15 h ;
— la concentration en NaCl : 0,1 M — 0,5 M — M — 3 M.

Les conditions communes d'extraction ont été décrites p. 20.

Le dosage de l'azote protéique contenu dans les extraits complété par l'interprétation quantitative des diagrammes électrophorétiques, dont la figure 6 est un exemple, nous a conduit aux résultats rassemblés tableau 7.

La quantité d'albumines-globulines solublisées demeure constante (290 mg N p. 100 g s.s. farine *Conley*), indépendamment de la dilution et de la durée d'extraction ; par contre, ces deux facteurs modifient légèrement le taux de gliadines solubilisées. Il semblerait, en effet, que plus l'extraction est énergique (dilution plus importante ou durée d'extraction plus longue), plus grande est la proportion de gliadine

souillant les protéines solubles. Les différences observées sont néanmoins peu significatives et il apparaît superflu de contrôler avec soin ces deux facteurs.

Il semble exister par contre, une teneur optimale en NaCl. Aux faibles (0,1 M) et aux fortes (1 M, 3 M) concentrations en sel, la proportion de gliadines extraites est en effet bien plus importante (30 à 45 p. 100) qu'à 0,5 M (20 p. 100) ; inversement, la quantité d'albumines-globulines dissoute est bien plus faible (142 à 174 mg N p. 100 mg s.s. au lieu de 290 mg).

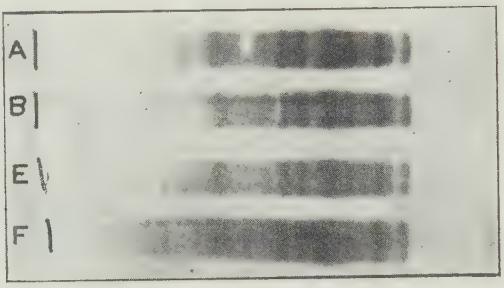


FIG. 6. — *Comportement électrophorétique* (pH = 3,2) *des extraits salins A, B, E et F, obtenus dans différentes conditions d'extraction.*

On doit également noter, sans toutefois expliquer le phénomène, la solubilisation préférentielle des gliadines en milieu 1,0 M NaCl, alors que l'insolubilisation progressive des gliadines avec l'augmentation de la force ionique est habituellement admise.

Enfin, nous avons vérifié qu'il était possible de solubiliser une fraction supplé-

TABLEAU 7

Quantité d'albumines-globulines et de gliadines solubilisées en milieu salin neutre en fonction des conditions d'extraction
(farine *Conley*)

N° des extraits	Conditions d'extraction			Albumines-Globulines		Gliadines	
	Rapport farine/solvant	Durée de l'extraction	Concentration en NaCl	mg N extrait p. 100 g farine s.s.	% protéines extraites	mg N extrait p. 100 g farine s.s.	% protéines extraites
A	1/7	1 h.	0,5 M	288	80,5	70	19,5
B	1/4	1 h.	0,5 M	270	82,5	58	17,5
C	1/14	—	—	296	75,5	102	24,5
D	1/7	10 mn.	0,5 M	292	84,0	56	16,0
E	—	15 h.	—	290	79,0	78	21,0
F	1/7	1 h.	0,1 M	145	63,5	83	36,5
G	—	—	1 M	196	55,0	163	45,0
H	—	—	3 M	174	72,0	68	28,0

mentaire d'azote (60 mg N. p. 100 g. farine s.s.) en réalisant une deuxième extraction, mais celle-ci est alors essentiellement constituée de gliadines.

Une seule extraction de courte durée suffit donc à solubiliser la presque totalité des albumines-globulines avec le minimum de gliadines à la condition d'opérer à une force ionique ($\mu = 0{,}5$) bien déterminée.

b) *Séparation des albumines et des globulines.*

Compte tenu des caractères de solubilité définissant les albumines et les globulines, la dialyse de l'extrait salin contre l'eau doit provoquer la précipitation de ces dernières et maintenir les albumines en solution.

L'analyse électrophorétique des extraits ainsi obtenus montre l'insuffisance de la séparation. On constate, en effet, que les globulines isolées demeurent souillées d'albumines et de gliadines. Les albumines, par contre, se révèlent apparemment libres de tout autre groupe protéique.

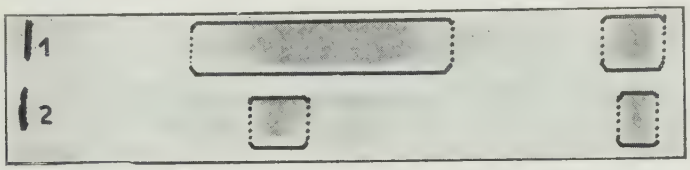


Fig. 7. — *Comportement électrophorétique* (pH = 3,2) *des globulines*
(1. Globuline brute ; 2. Globuline purifiée par lavage à l'eau et à l'alcool)

Il est possible de purifier davantage les globulines par épuisement répété du précipité à l'eau et à l'alcool. Le résidu, apparemment pur en globulines, est cependant difficile à resolubiliser en totalité (fig. 7).

On peut également objecter à cette technique qu'elle élimine une fraction protéique mal définie.

Elle permet, néanmoins, d'estimer, après détermination du poids sec et de l'azote des produits lyophilisés, les proportions respectives d'albumines et de globulines dans l'extrait salin.

Nous verrons plus loin que la filtration sur gel de Séphadex permet d'isoler les globulines de manière apparemment plus douce, mais les estimations quantitatives sont alors bien plus aléatoires.

B. *Groupe des gliadines*

Si on caractérise généralement les gliadines par leur solubilité dans l'éthanol aqueux, l'expérience montre l'influence des conditions d'extraction sur la quantité et la nature des protéines solubilisées : selon que les farines ont été ou non préalablement épuisées par NaCl 0,5 M afin d'éliminer la totalité des albumines-globulines, un traitement exhaustif par l'éthanol 60 p. 100 solubilise 36,8 à 82,9 p. 100 de l'azote total de la farine (*Heurtebise*).

L'élimination des protéines solubles est donc un préalable nécessaire à l'extraction des gliadines. Dans les essais rapportés ci-dessous, l'extraction de la farine par NaCl 0,5 M suivant les conditions définies plus haut a donc toujours précédé le traitement alcoolique.

— Un traitement exhaustif par l'éthanol 60 p. 100 de la farine ainsi traitée par NaCl provoque l'apparition de solution trouble (extraction à l'Ultra-Turrax).

L'électrophorèse (pH = 3,2) (fig. 8) montre que la turbidité des extraits, estimée en mesurant leur absorption à 460 mμ, est liée à la dispersion de la gluténine (tabl. 8)

TABLEAU 8

Nature des extraits éthanoliques de farine (E. Triumph) *en fonction du nombre d'extractions*

Numéro de l'extrait	N solubilisé p. 100 N total	Turbidité (DO à 460 mμ)	Composition protéique
1	31,3	0,015	Gliadines
2	23,5	2,000	Gliadines et Gluténine
3	3,7	1,000	Gluténine et Gliadines
4	0,5	0,230	—
5	0,0	0,001	—

Afin d'extraire la totalité des gliadines sans disperser la gluténine, nous avons donc cherché à obtenir des solutions aussi limpides que possible, tout en extrayant le maximum d'azote.

Nous avons été ainsi amené à préciser la nature et le titre de l'alcool ainsi que les conditions d'agitation.

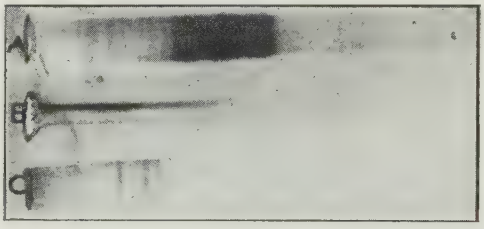


FIG. 8. — *Comportement électrophorétique* (pH = 3,2) *des extraits éthanoliques de farine* (A : 1er extrait ; B : 2e extrait ; C : 3e extrait)

On a comparé *l'efficacité d'extraction de l'éthanol et de l'isopropanol* à différents titres en déterminant la quantité d'azote solubilisé et la turbidité des solutions obtenues après une seule extraction (tabl. 9).

La limpidité des solutions (DO = 0,02 à 0,04) démontre l'absence de gluténine dans tous les extraits. On a donc retenu le solvant solubilisant le maximum d'azote.

Entre l'éthanol 60 p. 100 ou l'isopropanol 60 p. 100, nous avons opté, arbitrairement, pour le premier.

On a testé, par ailleurs, *deux systèmes d'agitation* :

— un agitateur produisant, suivant l'axe des tubes, 280 secousses à la minute (Griffin et George) ;

— un appareil de dispersion constitué d'une tige (diamètre = 18 mm) à l'intérieur de laquelle tourne une roue dentée à très grande vitesse (24 000 t. p. mn.) (Ultra-Turrax).

TABLEAU 9

Extraction comparée de la gliadine par l'éthanol et l'isopropanol

Nature de l'alcool.....	Éthanol			Isopropanol	
Titre de l'alcool.....	70 p. 100	60 p. 100	50 p. 100	30 p. 100	60 p. 100
N extrait p. 100 N total	22	36,8	31,5	13,8	36,5
DO à 460 mμ	0,02	0,03	0,02	0,03	0,04

L'expérience a montré la mauvaise reproductibilité des résultats obtenus à l'Ultra-Turrax ; nous pensons que celle-ci doit être attribuée à la constitution de cet appareil, le solvant remontant à l'intérieur de la tige par suite de l'usure rapide des joints et réapparaissant parfois dans les extractions suivantes.

On a donc utilisé l'agitateur Griffin.

Nous avons alors constaté que la quantité d'azote extrait était fonction du nombre de lavages effectués entre la première et la deuxième extraction (tabl. 10), ceux-ci permettant probablement d'éliminer NaCl ou les ions Phosphates (Moureaux, 1965) apportés lors de l'extraction des protéines solubles.

TABLEAU 10

Influence des lavages intermédiaires sur la solubilisation des gliadines
(2 extractions séparées de 0, 1 ou 2 lavages — agitation Griffins)

Nombre de lavages	N extrait p. 100 N total	DO (460 mμ)
0	39,7	0,01
1	42,5	0,02
2	48,5	0,28

On a vérifié que le supplément d'azote solubilisé après deux lavages était essentiellement de nature gliadine ; en effet :

— d'une part, la solution ainsi obtenue a une faible turbidité (DO 460 mμ = 0,280) ;

— d'autre part, la gluténine est souillée de gliadines lorsque celle-ci a été extraite sans lavage intermédiaire, tandis que seules des traces y sont décelables après deux lavages (fig. 9).

Notons cependant que les traces de gliadines subsistant dans le deuxième extrait sont constituées, pour leur plus grande part, de fractions de faible mobilité, ce qui permet de supposer que celles-ci seraient moins solubles dans l'éthanol.

Comme on doit éviter une troisième extraction en raison de la turbidité des solutions éthanoliques obtenues (DO > 2,0), on a adopté un protocole faisant intervenir deux extractions Griffin (par l'éthanol 60 p. 100) séparées par deux lavages.

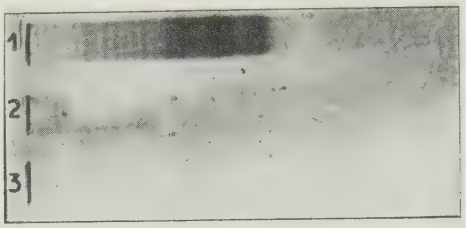


FIG. 9. — *Comportement électrophorétique* (pH = 3,2) *de la gluténine*
(1. Gliadines témoins 2. Gluténine extraite sans lavage préalable du résidu de farine ;
3. Gluténine extraite après lavage du résidu de farine)

C. *Groupe des gluténines*

L'action dénaturante exercée sur les protéines par les solutions alcalines diluées a conduit différents auteurs à rechercher d'autres solvants que celui préconisé par OSBORNE. Certains ont utilisé l'urée (COOK, 1931), le salicylate de sodium (COLVIN et MCCALLA, 1949), le naphtyl acétate de sodium (GRACE, 1944), la diméthyl-formamide (VERCOUTEREN, 1954). Les agents réducteurs, parfois employés, ont été abandonnés par suite de leur action irréversible sur les liaisons disulfure —S—S.

Tous ces travaux démontrent les réelles difficultés rencontrées pour solubiliser la gluténine. la majorité des solvants proposés ne réalisant qu'une solubilisation partielle.

Nous avons néanmoins tenté de solubiliser quantitativement la gluténine en comparant l'action de plusieurs réactifs acides, estimés en général par les chimistes des céréales moins dénaturants que les réactifs alcalins :

— Monochlorhydrine du glycol à 30 p. 100 d'eau — pH = 2,3 (selon TSCHOEGL, 1961) ;

— Acide acétique 0,01 N — pH = 2,5

— Tampon lactate-propionate pH = 2,6.

— Isopropanol lactique selon ZELENY (1947) pH = 2.

Les conditions d'extraction sont celles retenues pour les gliadines mais en supprimant les lavages entre les deux extractions.

Les résultats, réunis tableau 11, montrent que la quasi-totalité de la gluténine est alors dissoute par la monochlorhydrine du glycol (GMC), le faible déficit observé devant probablement être attribué à des erreurs analytiques. Les trois autres solvants, par contre, abandonnent une fraction insoluble égale à 10 p. 100 et plus de la gluténine extraite.

On a donc choisi la monochlorhydrine du glycol comme agent d'extraction. Il

faut préciser que les extraits obtenus sont plutôt des dispersions de gluténine que des solutions vraies.

L'ensemble des résultats présentés ci-dessus nous a conduit à définir le protocole d'extraction exposé précédemment (p. 20). Si celui-ci semble aboutir, comme nous venons de le montrer, à la séparation de 4 groupes protéiques individualisés, il reste néanmoins nécessaire de confirmer ces résultats par une étude plus détaillée de la nature des protéines isolées.

Nous étudierons donc successivement leur composition chimique et leur comportement électrophorétique et chromatographique.

TABLEAU II

Extraction de la gluténine, à partir du gluten, par différents solvants acides

	N extrait p. 100 N gluten			
Gliadines	60,3	63,4	62,3	64,6
Gluténine	*GMC*	*CH_3COOH*	*Lact. prop.*	*Isoprop. lact.*
solubilisée	38,9	32,9	34,3	30,0
résiduelle	0,8	3,7	3,4	5,4

Composition chimique des groupes protéiques isolés

La teneur moyenne en protéines (N × 5,7) des préparations isolées est très variable d'un groupe à l'autre, mais à peu près constante à l'intérieur d'un même groupe : 50 p. 100 pour les albumines, 85 p. 100 pour les globulines, 94 p. 100 pour les gliadines et 75 p. 100 pour la gluténine.

On ne note guère de différence entre les blés durs et les blés tendres.

Le fait qu'il s'agit de préparations isolées à l'état brut sans traitement complémentaire explique que des constituants de nature non protéique solubilisés dans les mêmes conditions soient également présents. Contrairement à d'autres auteurs notre préoccupation n'a pas été d'isoler des protéines pures, mais d'extraire avec le minimum de traitement la totalité du matériel protéique répondant à des critères de solubilité définis.

En particulier, nous n'avons pas recherché l'élimination des polyholosides non dialysables qui représentent une proportion importante d'un extrait aqueux de farine. Il n'est donc pas surprenant que les albumines soient aussi pauvres en azote. Il est également probable que les gluténines sont souillées d'amidon mis en suspension dans la monochlorhydrine du glycol. Les gliadines isolées sont par contre particulièrement riches en protéine (94 p. 100) eu égard à la simplicité de leur extraction,

L'« impureté protéique » des préparations obtenues ne constitue pas, nous semble-t-il, un handicap à leur étude. Nous pensons au contraire que le matériel brut isolé rend mieux compte des différents complexes dans lesquels les protéines sont engagées

à l'état natif et est en définitive plus représentatif que des préparations ayant subi des purifications poussées.

C'est ce que montrera l'étude de leur composition chimique.

A. *Composition en acides aminés des protéines*

La composition en acides aminés des quatre groupes protéiques, rapportée tableau 12 et illustrée figure 10 conduit aux remarques suivantes :

TABLEAU 12

Composition en acides aminés des protéines de la farine
(g ac. aminés pour 16 g N)(le trytophane et la cystéine n'ont pas été dosés)

	Albumines	Globulines	Gliadines	Gluténine
Glycine	4,3	5,1	2,2	4,6
Alanine	5,2	5,9	2,1	3,7
Valine	5,9	5,6	3,9	4,85
Isoleucine	3,7	3,8	4,0	3,8
Leucine	7,3	7,7	6,8	7,2
Phénylalanine	3,8	3,8	5,7	4,6
Proline	7,2	4,3	13,95	8,95
Sérine	4,7	4,9	4,5	5,3
Thréonine	3,8	4,2	2,2	3,3
Tyrosine	4,0	3,6	3,2	4,0
Méthionine	2,1	2,0	1,45	1,6
Lysine	4,2	7,55	0,9	3,15
Arginine	6,0	7,8	2,8	4,1
Histidine	2,5	2,2	2,2	2,0
NH_3	2,4	1,6	1,6	3,25
Ac. aspartique	7,0	8,7	2,5	4,7
Ac. glutamique	19,1	11,6	43,4	29,3

— En plus de l'acide glutamique, très abondant, les albumines sont essentiellement constituées, par ordre d'importance, de leucine, proline, acide aspartique, arginine, valine et alanine.

— Les globulines se caractérisent par leur richesse en arginine, lysine et acide aspartique, et leur pauvreté relative en acide glutamique et en acides aminés cycliques.

— Les gliadines, par contre, ont une teneur extrêmement élevée en acide glutamique qui constitue, à lui seul, presque la moitié de la protéine totale, et une grande richesse en proline. Leur teneur en acides aminés basiques est, au contraire, spécialement faible.

— La gluténine, enfin, moins riche en acide glutamique et en proline que la gliadine, l'est davantage en lysine, arginine, histidine et acide aspartique.

Ces valeurs qui confirment pleinement celles obtenues antérieurement par d'autres (Woychick et *al.* 1961 ; Waldschmidt-Leitz et Hochstrasser, 1961 ; Nimmo et *al.* 1963 ; Coates et Simmonds 1961), différencient donc les quatre protéines étudiées.

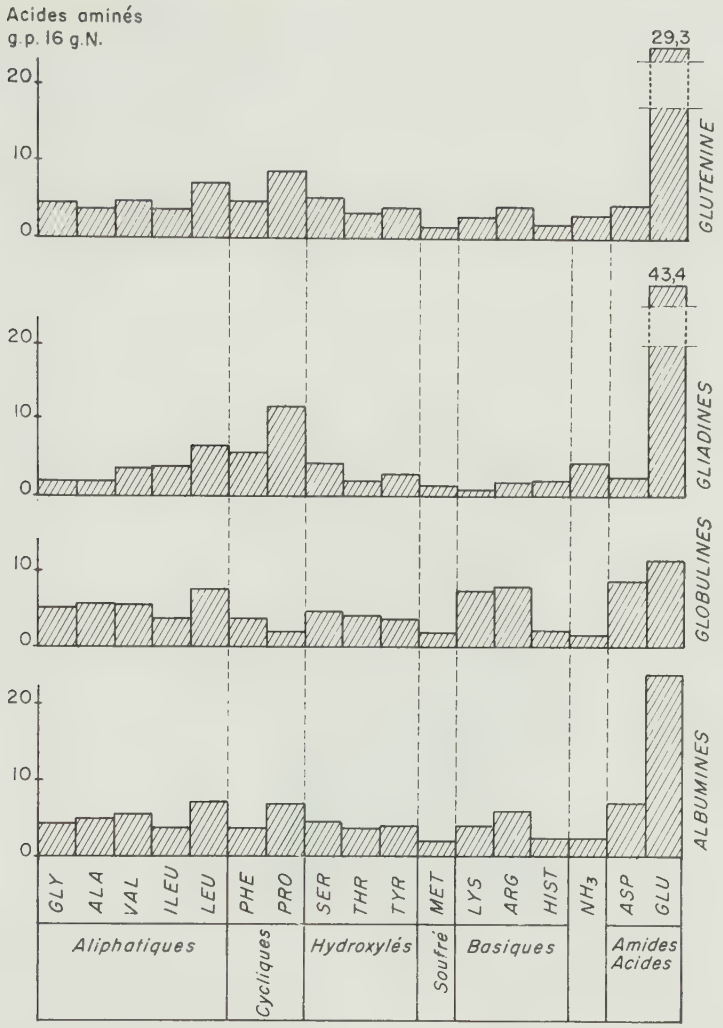


FIG. 10. — *Composition en acides aminés des 4 groupes protéiques*

B. *Étude de quelques constituants non protéiques associés*

Des études, menées parallèlement à ce travail, ont montré que les quatre groupes protéiques se différenciaient par leur teneur en phosphore total :

	γ P p. 100 mg s.s
Albumines	39
Globulines	1 195
Gliadines	100
Gluténine	182

— La teneur en P total (39 γ p. 100 mg s.s.) des albumines est très faible alors que celle des globulines (1 195 γ p. 100 mg s.s) est remarquablement élevée. Dans certains cas, en maintenant plusieurs jours au froid les sacs de viscose pour améliorer la séparation par dialyse des albumines et des globulines, la teneur en P des préparations d'albumines s'est abaissée jusqu'à 16,5 γ p. 100 mg s.s. et celle des globulines a atteint 1 370 γ p. 100 mg s.s. De plus, des essais de purification des albumines suivant la technique de PENCE et ELDER (1953) ont permis d'isoler un produit lyophilisé dont la teneur en P total était réduite à 3 γ p. 100 mg s.s. On peut donc admettre que, dans des conditions idéales de préparation, il n'y aurait plus trace de phosphore dans les albumines et que celles que nous y avons trouvées ont pour origine les globulines non totalement précipitées. Il suffit en effet que les albumines soient souillées de 1,5 p. 100 de globulines pour renfermer 20 γ p. 100 mg s.s de phosphore ;

— d'autre part, la teneur en P total de la gluténine (182 γ p. 100 mg s.s) est environ deux fois plus élevée que celle des gliadines (100 γ p. 100 mg s.s).

Nous avons donc été conduit à préciser la nature du phosphore ainsi identifié. Partant de l'hypothèse qu'il pouvait s'agir en particulier de constituants de nature nucléique ou phospholipidique, nous avons cherché à en démontrer l'existence.

a) *Nature nucléoprotéique de certains groupes.*

La teneur en acide nucléique des préparations isolées estimée par densitométrie UV (260 mμ), celle en ADN, dosé selon la technique colorimétrique de DISCHE (1930) et celle en ARN obtenue par différence (voir p. 29) sont très variables d'un groupe protéique à l'autre (tabl. 13).

TABLEAU 13

Composition nucléique des protéines de la farine
(E. Triumph)

	Acides nucléiques p. 100 s.s.	A.D.N. p. 100 s.s.	A.R.N. p. 100 s.s.
Albumines	non dosé	0,04	—
Globulines	9,7	3,7	6,0
Gliadines	0,23	0,01	0,22
Gluténine	0,83	0,13	0,70

Pour des raisons identiques à celles exposées plus haut, les traces d'acides nucléiques décelables chez les albumines ont très probablement pour origine une purification incomplète.

Si la teneur en acides nucléiques des gliadines est très faible (0,23 p. 100), celle de la gluténine n'est pas négligeable (près de 1 p. 100) et celle des globulines est très importante (9,7 p. 100).

On a donc cherché à préciser la composition nucléique de ce dernier groupe :

— dans une première étape, nous avons tenté de déterminer plus directement la composition qualitative des acides nucléiques liés aux globulines.

On sait qu'il est possible (voir p. 30) d'extraire les acides nucléiques liés aux nucléoprotéines par un traitement à chaud dans NaCl 10 p. 100 suivi d'une précipitation par l'éthanol. On peut ensuite hydrolyser l'ARN par HCl N et l'ADN par $HClO_4$ 70 p. 100, puis caractériser les produits d'hydrolyse par chromatographie à l'aide de marqueurs.

Comme l'illustre la figure 11 ci-après, nous avons ainsi vérifié la présence d'ARN et d'ADN dans les préparations de globulines.

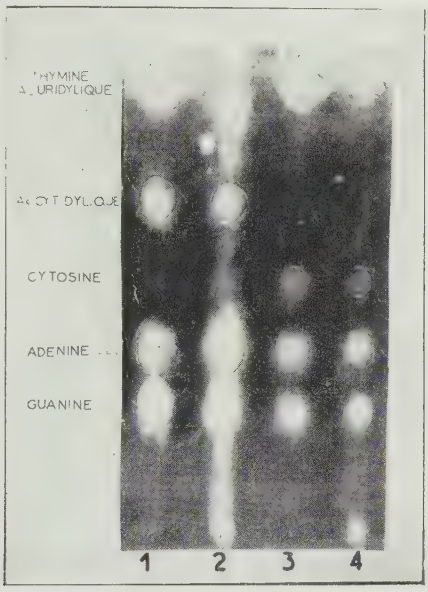


FIG. 11. — *Chromatographie sur papier des produits d'hydrolyse des extraits nucléiques de globulines :* 1. ARN de levure hydrolysé par HCl N. Témoin ; 2. Extrait nucléique de globulines hydrolysé par HCl N 3. ADN de thymus hydrolysé par $HClO_4$ 70 p. 100. Témoin ; 4. Extrait nucléique de globulines hydrolysé par $HClO_4$ 70 p. 100.

Dans une seconde étape, nous avons déterminé les teneurs en acides nucléiques de différentes globulines.

Des mesures effectuées sur 8 blés tendres conduisent à une teneur moyenne de 9,3 p. 100 s.s en acides nucléiques, la teneur en protéine étant elle-même, déduction faite de l'azote nucléique, de 77 p. 100 s.s. Les acides nucléiques représentent donc en moyenne 12 p. 100 des protéines. Par ailleurs, les proportions respectives d'ADN et d'ARN sont de 38 et 62 p. 100.

Cette teneur élevée en acides nucléiques permet-elle de conclure que les globulines de l'endosperme du grain de blé sont des nucléoprotéines ? Oui, si l'on considère que la composition en acides aminés de la fraction holoprotéique, caractérisée par sa richesse en lysine et en arginine (voir p. 40) et la pauvreté en tryptophane (PENCE et *al.*, 1954 *a*), est comparable à celle d'une histone.

Mais on peut également penser que les nucléoprotéines identifiées dans la farine sont en fait des constituants tirant leur origine du germe que les procédés de mouture n'éliminent jamais totalement.

b) *Nature lipidoprotéique de certains groupes.*

Les résultats ci-dessous donnent la teneur en lipides et en phosphore lipidique des quatre groupes protéiques isolés d'une même farine (*E. Triumph*) (tabl. 14).

TABLEAU 14

Teneur en lipides et en phosphore lipidique des protéines de la farine (E. Triumph)

	Protéines p. 100 s.s. (N × 5,7)	Lipides p. 100 s.s.	P total γ p. 100 mg s.s.	P lipidique	
				p. 100 mg s.s.	p. 100 P total
Albumines	54	1,8	20	2	10
Globulines	83	6,1	1 270	89	7
Gliadines	93	0,5	88,5	1,2	1,5
Gluténine	80	11,9	161	128	80

Dans la farine considérée, la teneur en lipides des globulines (6,1 p. 100 s.s) est trois fois plus élevée que celle des albumines. Ainsi que l'indiquent les résultats, une fraction de ce matériel lipidique est constituée de phospholipides.

Si la teneur en lipides des gliadines est négligeable (0,5 p. 100 s.s), la richesse de la gluténine est par contre très élevée (11,9 p. 100 s. s.).

Afin de vérifier dans quelle mesure le solvant acide utilisé pour extraire la gluténine était susceptible de détruire le complexe lipidoprotéique ainsi mis en évidence, les mêmes déterminations que ci-dessus ont été effectuées directement sur le résidu de la farine (gluténine non extraite) après extraction des protéines solubles et de la gliadine.

Les poids de lipides étant sensiblement égaux dans les deux cas (respectivement 48 et 46 p. 100 des lipides totaux de la farine — moyenne de 8 échantillons), il apparaît clairement que les complexes ne sont pas détruits par la GMC.

Il faut enfin noter la nature phospholipidique des lipides associés à la gluténine.

On a décelé depuis longtemps la présence de lipides dans le gluten. Tandis que Guillemet et *al.* (1942) pensaient que ceux-ci étaient plus spécialement liés à la gluténine, Blish (1945) montrait que la gliadine en était dépourvue. Nos propres résultats confirment ceux d'Olcott et Mecham (1947) qui ont réussi à isoler des gluténines contenant jusqu'à 20 p. 100 de lipides et montrent que les lipides du gluten sont préférentiellement fixés sur la gluténine.

A notre connaissance, la nature lipidoprotéique des protéines solubles du blé n'aurait pas encore été signalée. Ayrapa (1957), cependant, a démontré leur existence dans l'orge.

Comportement électrophorétique et chromatographique des groupes protéiques isolés

L'étude de la composition chimique des quatre groupes protéiques nous a montré que la nature nucléoprotéique (spécialement des globulines) et lipidoprotéique (spécialement des gluténines) de certains d'entre eux permettait de les caractériser.

Nous avons cherché à préciser leur individualité et leur constitution par des études électrophorétiques et chromatographiques.

A. *Comportement électrophorétique*

On sait que la mobilité électrique d'une particule chargée a pour expression $U = V/E$, V étant sa vitesse de migration (en cm/sec) sous l'action d'un champ E (en volts/cm) ; si la distance parcourue pendant le temps t est ΔX, elle s'exprime par :

$$U = \frac{\Delta X}{t} \times \frac{1}{E} \text{ cm}^2 \text{ sec}^{-1} \text{ volt}^{-1}$$

Comme la vitesse V est proportionnelle à la charge et inversement proportionnelle au coefficient de frottement de la particule, on peut caractériser cette dernière par sa mobilité électrique dans un milieu donné.

Bien que l'électrophorèse en veine liquide soit la seule méthode permettant de mesurer les mobilités absolues des particules chargées, on peut néanmoins comparer par électrophorèse de zone les mobilités apparentes de plusieurs molécules dans un milieu et sur un support déterminés :

On peut ainsi différencier les protéines entre elles. Deux protéines distinctes peuvent cependant avoir la même mobilité dans certaines conditions. Il est donc préférable, avant de conclure à l'identité de deux fractions, d'opérer à des valeurs de pH aussi différentes que possible.

Nous avons ainsi tenté de caractériser les quatre groupes protéiques isolés par leur mobilité en milieu acide (pH = 3,2) et basique (pH = 8,95) (1).

a) *Différenciation des quatre groupes protéiques.*

On a étudié le comportement électrophorétique des albumines, globulines, gliadines, et gluténine à pH = 3,2 et à pH = 8,9 (fig. 12).

En milieu acide, les gliadines sont les protéines les plus lentes (la gluténine exceptée qui reste au départ) ; leur mobilité est comprise entre $U = +0{,}1$ et $+0{,}9\ 10^{-4}$ cm^2 sec^{-1} $volt^{-1}$. Elles sont précédées des albumines ($U = 1{,}04$ à $+2{,}02\ 10^{-4}$ cm^2 sec^{-1} $volt^{-1}$). Les globulines sont moins nettement définies : en plus d'une fraction majeure très mobile ($U = +2{,}50$ à $+2{,}78\ 10^{-4}$ cm^2 sec^{-1} $volt^{-1}$), elles se résolvent en effet en une zone mal délimitée qui se situe au niveau du groupe des albumines ($U = +1{,}05$ à $+1{,}28\ 10^{-4}$ cm^2 sec^{-1} $volt^{-1}$).

En milieu basique, les albumines ($U = -0{,}65$ à $+0{,}35\ 10^{-4}$ cm^2 sec^{-1} $volt^{-1}$) se différencient mieux encore des gliadines et de la gluténine qui ne migrent pas.

(1) Les conditions expérimentales ont été décrites p. 22.

En raison des difficultés de remise en solution à ce pH, on n'a malheureusement pas pu préciser sur le diagramme la position qu'y occuperaient les globulines (tabl. 15).

Ces résultats précisent ceux d'Elton et Ewart (1962) qui, tout en constatant des interférences entre les différents groupes, ont délimité trois zones de mobilité

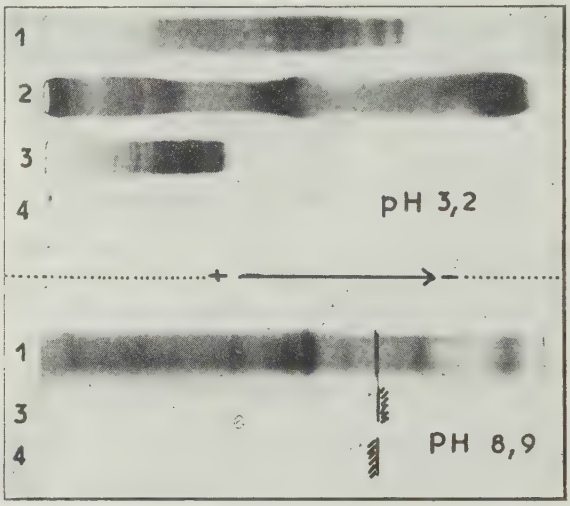


Fig. 12. — *Comportement électrophorétique des albumines* (1), *des globulines* (2), *des gliadines* (3) *et de la gluténine* (4) *en milieu acide* (pH = 3,2) *ou basique* (pH = 8,9).

croissante, en milieu acide, correspondant respectivement aux gliadines, aux albumines, et aux globulines. Conformément aux travaux de Gerhke et *al.* (1964), il semblerait qu'il existe une fraction globuline lente ; cependant, et malgré toutes les précautions prises pour éliminer les albumines de ce groupe protéique, il est possible que la présence de cette fraction lente témoigne d'une purification incomplète

TABLEAU 15

Mobilité électrophorétique des quatre groupes protéiques extraits de la farine

(pH = 3,25 et pH = 8,9)
$cm^2\ volt^{-1}\ sec^{-1}$

pH → / Groupe protéique ↓	3,25	8,9
Albumines	+ 1,04 à + 2,02 10^{-4}	— 0,65 à + 0,35 10^{-4}
Globulines	+ 1,05 à + 1,28 10^{-4} + 2,50 à + 2,78 10^{-4}	?
Gliadines	+ 0,10 à + 0,90 10^{-4}	+ ε
Gluténine	+ ε	— ε

des globulines. La « non mobilité » de la gluténine, que Woychick et *al.* (1961 *a*) attribuent à son encombrement moléculaire, est également confirmée.

Nous avons indiqué (p. 33) que cette spécificité de comportement électrophorétique des groupes protéiques était notre critère permanent d'identification des protéines solubilisées.

b) *Hétérogénéité des groupes protéiques.*

L'électrophorèse met en évidence l'hétérogénéité de certains groupes. En milieu acide, les gliadines se résolvent suivant les blés d'origine en 14 à 19 constituants (fig. 13) les globulines en 2 ou 3, les albumines en une dizaine (fig. 12) ; en milieu basique, ce dernier groupe est séparé en 16 fractions dont le quart demeure encore électropositif. Dans ce tampon, les gliadines ne se fractionnent pas. La gluténine n'est déplacée dans aucun des deux systèmes.

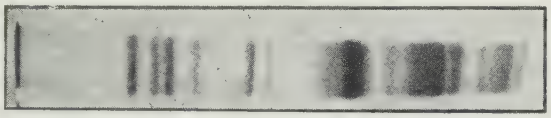


Fig. 13. — *Comportement électrophorétique* (pH = 3,2) *des gliadines*

L'hétérogénéité des protéines solubles et des gliadines est établie depuis longtemps ; suivant les conditions d'extraction et les méthodes de séparation utilisées, les auteurs ont en effet mis en évidence de 11 à 23 constituants dans un extrait aqueux ou salin et de 6 à 19 dans des solutions alcooliques. Cependant une préparation purifiée d'albumine n'a été fractionnée qu'en 11 constituants (Pence, 1953) et un extrait alcoolique d'une farine préalablement épuisée par une solution saline n'a révélé que 10 fractions ; compte tenu des deux fractions présentes dans les globulines, il est probable que les 23 constituants décelés par Kaminski (1962) dans un extrait salin doivent être attribués aux albumines-globulines et aux gliadines.

Selon nos résultats, le nombre de constituants d'un tel extrait serait de 30 à 35, les fractions propres aux gliadines (14 à 19) étant décelables en milieu acide et celles propres aux albumines-globulines (16) l'étant en milieu basique.

B. *Comportement chromatographique des protéines solubles sur Séphadex G 25*

Si l'électrophorèse en gel d'amidon est une technique de choix pour mettre en évidence l'hétérogénéité d'un mélange protéique, elle ne permet pas généralement d'isoler les fractions séparées en quantité suffisante.

On sait que la chromatographie sur Séphadex, encore appelée filtration sur gel, réalise des fractionnements basés sur les différences d'encombrement moléculaire des produits analysés.

Porath et Flodin (1959) ont montré que la filtration sur gel de Séphadex G 25 d'une solution protéique saline permettait de séparer les protéines des sels. Il faut naturellement que ces protéines soient solubles dans l'eau sous peine de précipiter à la limite du front salin et d'être éluées avec celui-ci.

Compte tenu des caractères de solubilité respectifs des albumines et des globulines, nous avons mis cette méthode à profit pour tenter de séparer ces deux groupes protéiques.

Dans nos conditions expérimentales (décrites p. 28), un extrait salin (NaCl 0,5 M) de farine (*E. Triumph*) se fractionne en 3 groupes de constituants (fig. 14, courbe 1) : A, B, C.

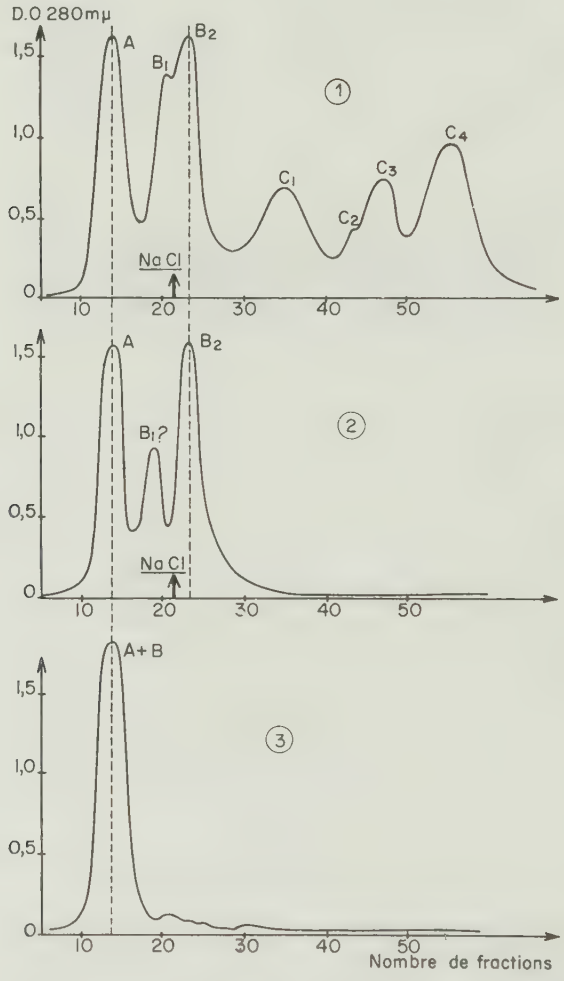


Fig. 14 *Chromatographie sur Séphadex G 25 d'un extrait salin de farine.*
Courbe 1 : colonne équilibrée par H_2O. Dépôt d'un extrait salin non dialysé.
Courbe 2 : colonne équilibrée par H_2O. Dépôt d'un extrait salin dialysé.
Courbe 3 : colonne équilibrée par NaCl. Dépôt d'un extrait salin dialysé.

— La fraction A (50 à 60 p. 100 de l'azote déposé) sort la première de la colonne, avant NaCl. Elle est soluble dans l'eau et les solutions salines. Elle reste homogène en chromatographie (fig. 15).

Son comportement électrophorétique est semblable à celui des albumines isolées

par dialyse (fig. 16) ; il en est de même de son spectre d'absorption dans l'ultraviolet. Les teneurs en azote et en phosphore du produit dialysé et lyophilisé sont respectivement de 6,5 N p. 100 s.s. et 113 γ P p. 100 mg s.s.

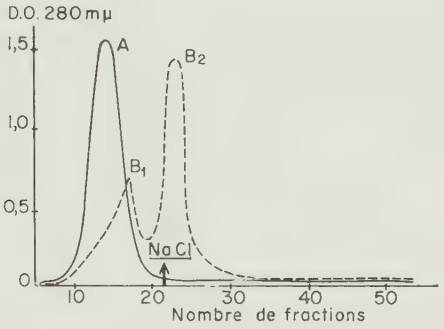


Fig. 15. — *Rechromatographie sur Séphadex G 25 des fractions A et B.*

— La fraction B (20 à 25 p. 100 de l'azote déposé) est formée de deux constituants B_1 et B_2 qui ne se séparent convenablement qu'après dialyse de l'extrait salin (fig. 14 — courbe 2) ou rechromatographie de B (fig. 15). Étudiée globalement, B sort de la colonne avec NaCl et se sépare ainsi de A ; par contre, lorsque la colonne est équilibrée avant le dépôt par la solution saline, B est éluée en même temps que A ; il semble donc que le retard de B sur la colonne équilibrée par H_2O doit être attribué à son insolubilisation dans l'eau.

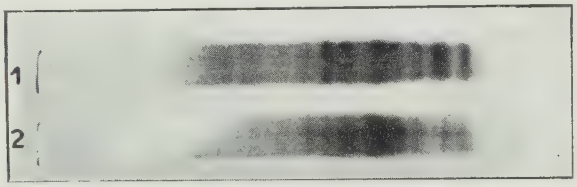


Fig. 16. — *Comportement électrophorétique* (pH = 3,2) *de la fraction A obtenue sur Séphadex G 25* (2), *comparativement à celui des albumines* (1).

Par ailleurs, ainsi que l'illustre la figure 17 ci-dessous, le comportement électrophorétique de B est comparable à celui des globulines isolées par dialyse.

De plus, sa teneur en phosphore exprimée en p. 100 de protéine totale est de 1,16.

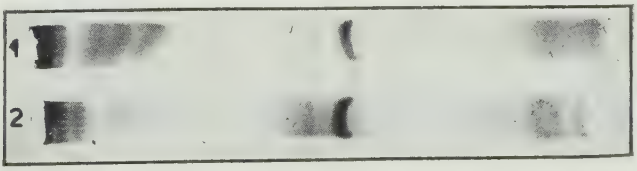


Fig. 17. — *Comportement électrophorétique* (pH = 3,2) *de la fraction B obtenue sur Séphadex G 25* (2) *comparativement à celui des globulines* (1).

— La fraction C (15 à 30 p. 100 de l'azote déposé), n'apparaissant plus dans les extraits dialysés 8 jours contre NaCl 0,5 M (fig. 14 — courbe 2) est dialysable. Elle correspondrait aux constituants azotés non protéiques de la farine et serait donc formée d'acides aminés et de peptides libres ; en outre, les spectres d'absorption des quatre fractions dont elle est formée, semblent indiquer la présence de constituants de type nucléotidiques (fig. 18).

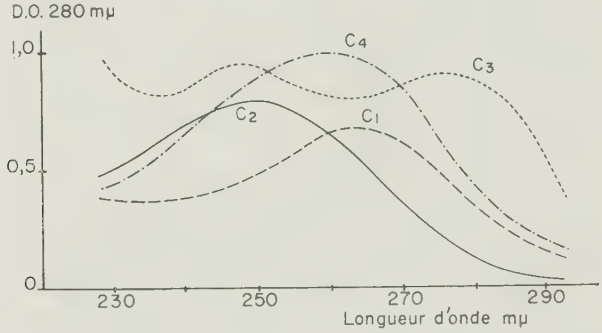


Fig. 18. — *Spectre d'absorption des fractions C obtenues sur Séphadex G 25.*

La chromatographie sur Séphadex G 25 est donc en quelque sorte l'équivalent d'une dialyse au cours de laquelle les précipités apparus seraient immédiatement remis en solution en milieu salin.

On constate en effet l'identité de composition et de comportement électrophorétique de la fraction A avec les albumines isolées classiquement et de la fraction B avec les globulines. En particulier, il est intéressant de noter la présence du constituant de mobilité intermédiaire chez B, ce qui semble confirmer qu'il existerait une fraction globuline dont la mobilité à pH = 3,2 serait semblable à celle du groupe des albumines.

Plus difficile à mettre en œuvre que la dialyse, la chromatographie sur Séphadex G 25 présente néanmoins l'avantage de diminuer le plus possible les risques de dénaturation des produits isolés. La rapidité de la séparation (2 h à 3 h) et le maintien presque constant des globulines en solution favorisent en effet la conservation des produits. Toutefois, on peut lui faire la critique de ne permettre d'isoler, dans nos conditions expérimentales, que peu de matériel à la fois. Dans la mesure où des études physicochimiques devraient être entreprises sur ces globulines, il nous semble pourtant que cette méthode d'isolement devrait être retenue de préférence à la dialyse.

***

Nos résultats semblent apporter des arguments complémentaires aux partisans de la conception d'Osborne.

En opérant dans des conditions définies et contrôlées, il est en effet possible d'isoler de la farine de blé *la totalité des protéines constitutives*, tout en les fractionnant en *4 groupes bien différenciés* par leur composition chimique et leur comportement électrophorétique.

On a néanmoins vérifié que *les critères de solubilité* d'Osborne étaient *insuffi-*

samment spécifiques, les gliadines étant solubles dans l'eau, les solutions salines et l'éthanol aqueux. Les albumines, par contre, se différencient parfaitement des globulines. Enfin, les gluténines extraites sont bien individualisées.

En raison des précautions prises pour isoler les quatre groupes, les *préparations* obtenues sont aussi *représentatives* que possible du matériel protéique « *in situ* ». L'analyse des groupes protéiques non purifiés, loin d'être un inconvénient, a permis au contraire de mieux définir le complexe biochimique que représente le matériel azoté de la farine. Cela nous a permis de démontrer que certaines protéines étaient étroitement associées à des constituants de nature *nucléique* (globulines) ou *lipidique* (protéines solubles, gluténine).

C'est sur la base de ces données que les études qui vont maintenant être exposées ont été entreprises. En raison des difficultés rencontrées dans le dosage séparé des albumines et des globulines, on a cependant regroupé ces deux protéines dans l'unique groupe des « protéines solubles ».

Évolution des protéines du grain au cours de sa maturation

Les résultats que nous venons d'exposer ont été obtenus à partir de farines extraites de blés arrivés à maturation. Vu la complexité du matériel azoté du blé mature, nous avons pensé qu'une étude « dynamique » des protéines devait faciliter la compréhension de leurs propriétés.

Nous avons donc entrepris de suivre l'évolution des groupes protéiques du blé au cours de son développement.

A. *Matériel d'étude*

Cette étude a été effectuée sur la variété pure *INRA 62-15* cultivée en plein champ [1].

Après avoir délimité un carré de 20 mètres de côté, choisi en raison de l'homogénéité du sol, on a effectué 11 prélèvements espacés de 3 à 7 jours, échelonnés du 8e jour après la fécondation jusqu'à la maturité. Immédiatement après la collecte des épis, faite au hasard, l'égrenage a été réalisé manuellement. Les grains, congelés et grossièrement broyés (afin de rompre les parois imperméables à l'eau) ont été lyophilisés, finement réduits et stockés à — 5°C.

Simultanément, on a déterminé le poids de 100 grains secs, l'humidité et l'azote total.

Les groupes protéiques ont été extraits suivant le protocole expérimental classique (voir p. 20), dosés puis soumis à l'électrophorèse.

Les caractéristiques générales de ces 11 échantillons sont rapportées tableau 16 et figure 19.

La courbe 1 se rapporte à la quantité d'eau, exprimée en grammes, contenue dans 100 grains. Il est intéressant de la comparer à la courbe 2 qui représente l'évolution théorique de la teneur en eau selon Geslin et Jonard (1948). Les deux courbes.

[1] Par les soins de M. Leclerc, des Éts Tourneur, que nous remercions ici.

TABLEAU 16

Caractéristiques des échantillons INRA 62-15
récoltés à différents stades du développement du grain

Numéro de prélèvement	Nombre de jours après la fécondation	Poids de 100 grains (g)		Poids d'eau (g) dans 100 grains	Teneur en eau p. 100 s.s.	N total p. 100 s.s.	N total g p. 100 grains
		frais	sec				
1	8	1,88	0,44	1,44	76,5	2,51	1 105
2	12	2,73	0,72	2,01	73,6	2,32	1 660
3	16	4,59	1,45	3,14	68,4	2,24	3 250
4	20	5,29	1,88	3,41	64,5	2,18	4 100
5	23	5,79	2,29	3,50	60,5	2,16	4 950
6	27	6,35	3,01	3,34	54,2	2,14	6 450
7	30	7,20	3,40	3,80	52,7	2,22	7 530
8	35	6,74	3,78	2,96	44,0	2,39	9 050
9	41	6,85	3,90	2,95	43,0	2,42	9 400
10	48	5,00	3,80	1,20	24,0	2,48	9 400
11	54	4,60	3,60	1,00	21,8	2,55	9 200

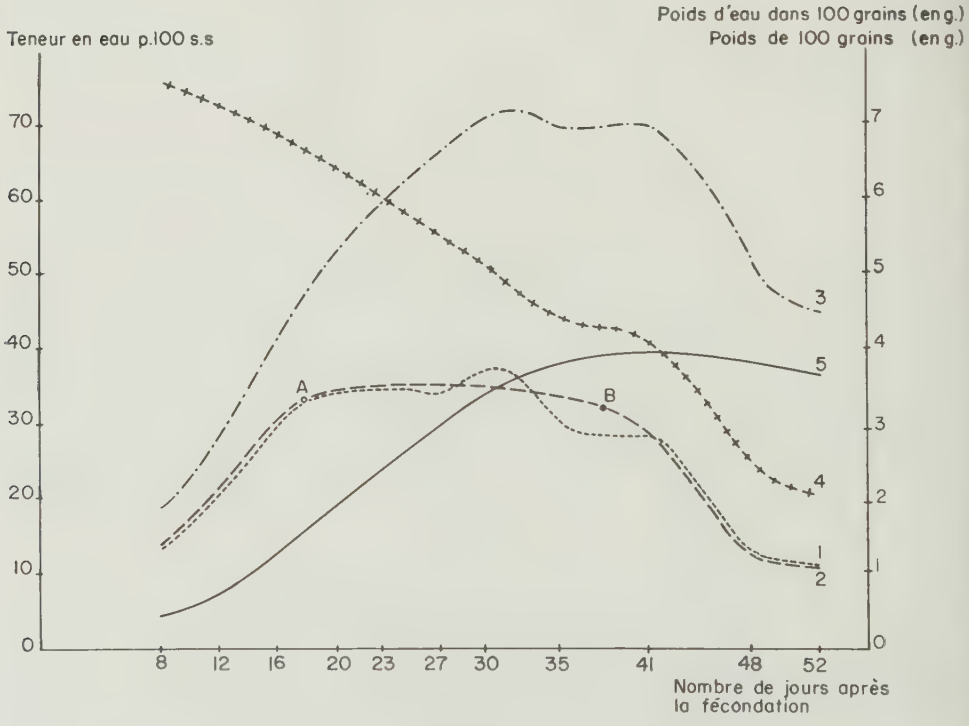


FIG. 19. — *Caractéristiques des échantillons prélevés au cours de la maturation du grain :*
1. Poids d'eau dans 100 grains ; 2. Courbe théorique du poids d'eau dans 100 grains (selon GESLIN et JONARD (1948) ; 3. Poids de 100 grains frais ; 4. Teneur en eau (mg. p. 100 mg. s.s) ; 5. Poids de 100 grains secs.

TABLEAU 17

Évolution de la composition azotée du grain au cours de sa maturation

Désignation des échantillons .... Nombre de jours après la fécondation.....		1 (+ 8)	2 (+ 12)	3 (+ 16)	4 (+ 20)	5 (+ 23)	6 (+ 27)	7 (+ 30)	8 (+ 35)	9 (+ 41)	10 (+ 48)	11 (+ 52)
mg pour 100 grains secs	N total	1 105	1 660	3 250	4 100	4 950	6 450	7 530	9 050	9 400	9 400	9 200
	N non protéique....	632	820	1 410	1 280	1 220	1 240	1 220	1 270	855	800	720
	N protéique.....	473	840	1 840	2 820	3 730	5 220	6 310	7 780	8 545	8 600	8 480
	N protéines solubles .	123	257	580	752	825	1 080	1 260	1 270	1 440	1 400	1 190
	N gliadines	22	71	363	881	1 380	2 280	2 880	3 850	3 650	3 530	3 340
	N gluténine.....	328	512	897	1 187	1 525	1 850	2 230	2 660	3 455	3 670	3 950
	N (gliad. + glut.) ...	350	583	1 260	2 068	2 905	4 130	5 110	6 510	7 100	7 200	7 290
p. 100 N total	N non protéique....	57,3	49,5	43,2	31,2	25,9	19,2	16,2	13,8	9,1	8,5	7,8
	N protéique.....	42,7	50,5	56,8	68,8	74,1	80,8	83,8	86,2	90,9	91,5	92,2
p. 100 N protéique	N protéines solubles .	26,2	30,7	31,6	26,6	22,5	20,7	19,8	15,9	16,9	16,3	14,0
	N gliadines	4,7	8,5	19,7	31,4	37,5	43,9	44,6	49,5	42,8	40,8	39,3
	N gluténine.....	69,1	60,8	88,7	42,0	40,0	35,4	35,6	34,6	40,3	43,9	46,7
	N (gliad. + glut.) ...	73,8	69,3	69,4	73,4	77,5	79,3	80,2	84,4	83,1	84,7	86,0
mg p. 100g grains s.s.	N total	2 510	2 320	2 240	2 180	2 160	2 140	2 220	2 390	2 420	2 420	2 550
	N non protéique....	1 440	1 150	970	680	560	410	360	330	220	210	200
	N protéique.....	1 070	1 170	1 270	1 500	1 600	1 730	1 860	2 060	2 200	2 270	2 350
N (gliad. + glut.)/N (prot. sol.) ..		2,82	2,25	2,17	2,76	3,45	3,81	4,03	5,24	4,95	5,14	6,12
N gliadines/N gluténine		0,07	0,14	0,40	0,75	0,94	1,25	1,26	1,44	1,06	0,96	0,85

se superposent en début et en fin de croissance. Par contre, les irrégularités observées sur la portion intermédiaire A B traduisent l'échaudage des grains qui a été noté à cette époque.

Cet échaudage a provoqué une diminution précoce du poids de 100 grains frais (courbe 3), due à l'abaissement de la teneur en eau (courbe 4) plus qu'à un ralentissement de l'accumulation de matériel sec dans le grain (courbe 5). Cette dernière courbe, dont la forme en S est caractéristique des phénomènes de croissance, est en effet très régulière. On doit cependant noter une diminution très légère du poids sec de 100 grains en fin d'évolution qu'il faut probablement attribuer à l'échantillonnage.

En dépit de l'échaudage, ces échantillons représentent donc un matériel convenable pour l'étude de l'évolution des protéines au cours de la maturation.

B. *Résultats*

Nous envisagerons successivement la composition et la constitution protéique des 11 échantillons.

a) *Composition protéique.*

Les résultats analytiques (tabl. 17) sont exprimés sous trois formes afin de rendre mieux compte de tous les facteurs ; l'azote est calculé :

— soit en mg N p. 100 grains. On explicite ainsi la vitesse d'accumulation du matériel protéique dans le grain,

— soit en p. 100 N protéique. Cette expression permet de définir l'importance relative des différents groupes,

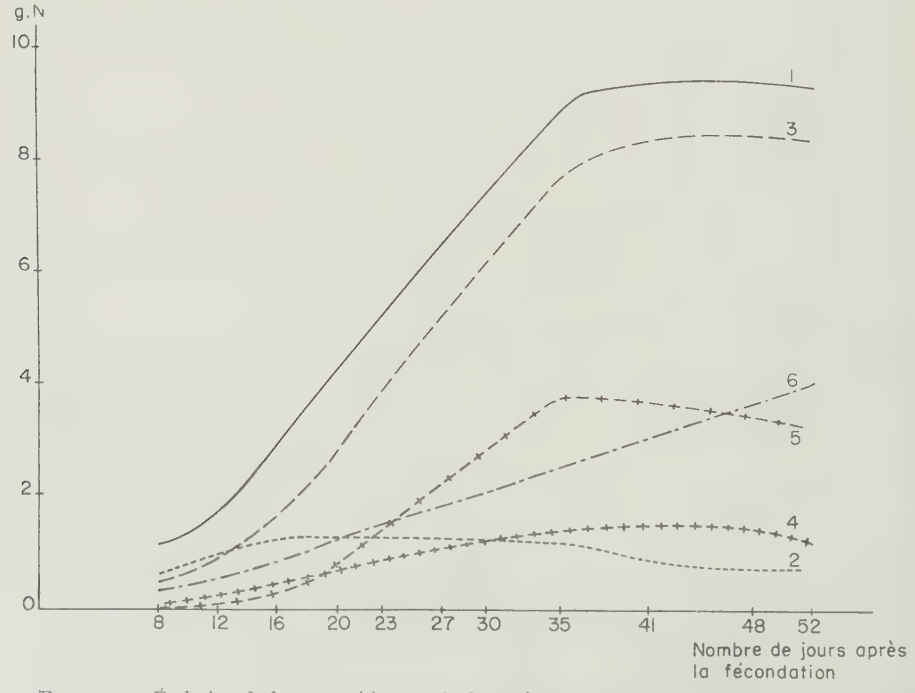


Fig. 20. — *Évolution de la composition azotée du grain au cours de sa maturation :*
1. N total ; 2. N non protéique ; 3. N protéique ; 4. N protéines solubles ; 5. N gliadines ; 6. N gluténine.

— soit en mg N p. 100 g s. s. On exprime de cette manière l'importance des protéines du grain par rapport au matériel non azoté.

Ainsi que l'illustre la figure 20 ci-dessus, la teneur en azote total contenu dans 100 grains (courbe 1) est une fonction linéaire du temps du 12e au 35e jour, date à partir de laquelle le poids d'azote demeure constant, excepté une très légère chute en fin de maturation. L'apport d'azote dans 100 grains est de 343 mg N par jour durant la phase linéaire. Les courbes 2 et 3 montrent que si la quantité d'azote libre (azote dialysable) à la disposition du grain reste constante, indépendamment du poids de celui-ci, l'azote protéique, par contre, évolue parallèlement à l'azote total ; toute augmentation d'azote total se répercute donc uniquement sur la teneur en protéines.

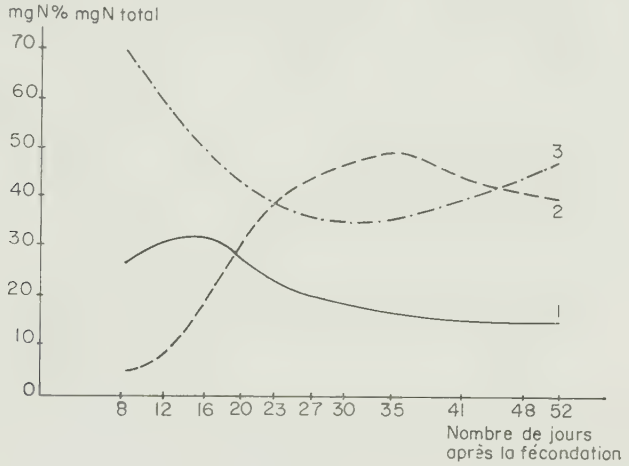


Fig. 21. — *Importance relative des groupes protéiques du grain au cours de sa maturation :* 1. Protéines solubles ; 2. Gliadines ; 3. Gluténine.

La synthèse des protéines solubles (courbe 4) se poursuit régulièrement jusqu'au 35e jour et s'arrête ensuite. La vitesse d'accumulation dans 100 grains, 50 mg N par jour, est très lente.

La synthèse des gliadines (courbe 5) est totale en 20 jours, (du 16e au 35e jour). Durant cette période, ces protéines s'accumulent, bien plus rapidement que les autres groupes à raison de 200 mg N par jour ; son taux diminue ensuite de 15 p. 100 jusqu'à la maturation.

La vitesse d'accumulation de la gluténine (courbe 6) reste constante durant la totalité du développement ; elle est de 105 mg N par jour.

La figure 21 (N p. 100 N protéique) met en évidence l'importance relative de chaque groupe :

— en légère augmentation en début de maturation, le taux de protéines solubles représente 31,6 p. 100 des protéines totales au 16e jour puis diminue et se stabilise rapidement (35e jour) aux environs de 16 p. 100.

— la teneur en gliadines, négligeable les premiers jours (à peine 5 p. 100), croît très vite jusqu'au 35e jour (49,5 p. 100) puis régresse jusqu'à la maturation (39,3 p. 100).

— la gluténine suit une évolution inverse : représentant plus de 70 p. 100 en début de développement, sa teneur diminue puis augmente corrélativement à l'évolution de la gliadine ; elle passe par un minimum de 34,6 p. 100 et représente 46,7 p. 100 en fin de croissance.

La figure 22 (mg N p. 100 g s.s.) montre enfin que si la fraction azotée (azote total) représente une fraction sensiblement constante du grain (2 140 à 2 650 mg N p. 100 grains), l'azote non protéique diminue tandis que l'azote protéique croît.

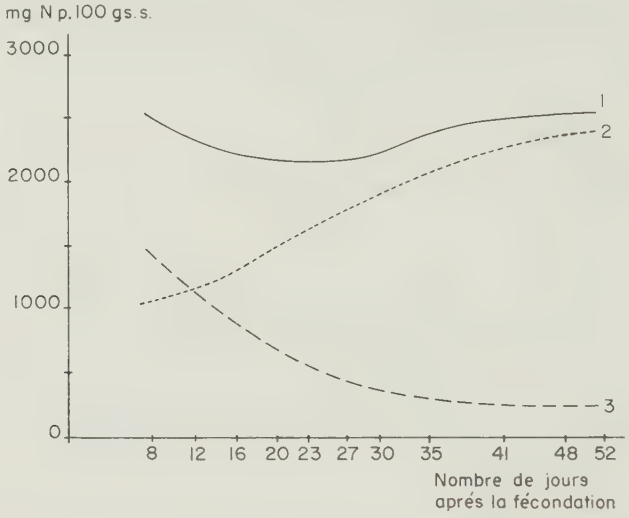


FIG. 22. — *Évolution de la composition azotée du grain au cours de sa maturation:* 1. N total ; 2. N protéique ; 3. N non protéique.

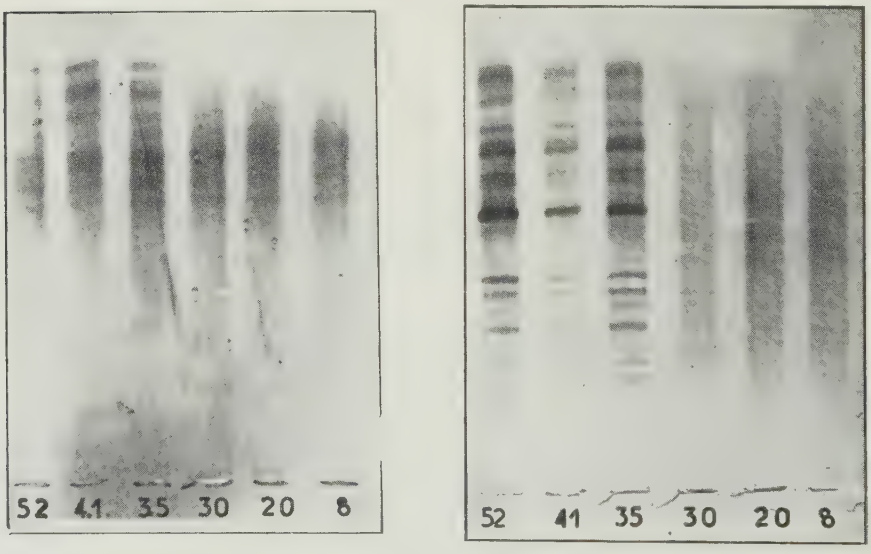


FIG. 23. — *Composition électrophorétique* (pH = 3,2) *des groupes protéiques du grain au cours de sa maturation* (8e, 20e, 30e, 35e, 41e *et* 52e jour après la fécondation). (à gauche : albumines-globulines ; à droite : gliadines).

b) *Constitution protéique.*

Ainsi que l'illustrent les diagrammes de la figure 23 la mobilité électrophorétique des protéines solubles et des gliadines demeure globalement inchangée durant toute la maturation.

L'hétérogénéité des albumines-globulines se manifeste dès les premiers jours du développement du grain, et ne semble subir que peu de modifications tout au long de la croissance, si ce n'est l'apparition de constituants de plus grande mobilité vers le 35e jour.

Les gliadines, par contre, n'acquièrent leur structure définitive qu'aux environs du 35e jour ; avant cette date l'électrophorèse ne décèle aucune fraction individualisée si ce n'est quelques constituants de très faible mobilité. Au-delà, par contre, les 15 constituants mis en évidence restent inchangés en nombre et en importance (fig. 24).

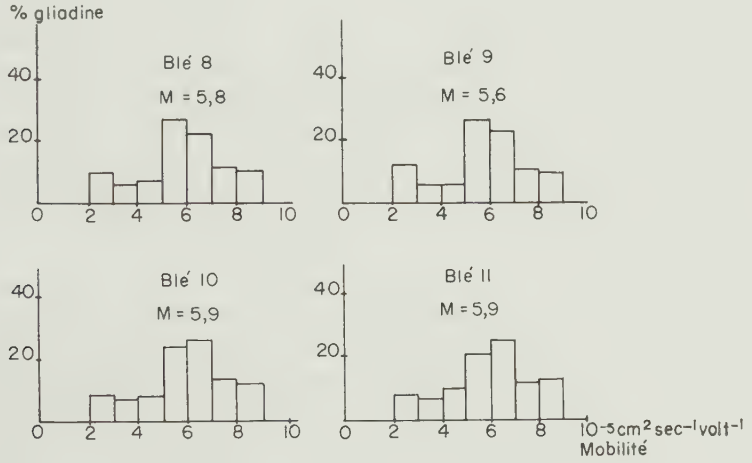


Fig. 24. — *Composition quantative des gliadines du grain en cours de maturation* (8e, 9e, 10e et 11e prélèvement).

La gluténine ne migre pas, quelle que soit la date de prélèvement. Elle aurait donc, dès les premiers jours, un encombrement moléculaire trop important pour « filtrer » à travers les mailles du gel d'amidon.

c) *Discussion.*

La majorité des travaux relatifs à l'évolution des protéines du blé au cours de sa maturation sont anciens et n'intéressent que la composition protéique.

Selon Jennings et Morton (1963), la teneur en azote du grain exprimée en mg par grain, augmenterait linéairement jusqu'à la maturation. Nos résultats confirmant ceux de Woodman et Engledow (1924), mettent cependant en évidence l'existence d'un palier qui apparaît au début de la dessiccation du grain. Il est probable que l'on peut expliquer cette divergence par l'arrêt prématuré des prélèvements effectués par Jennings qui n'aurait pas analysé les échantillons en fin de maturation.

Par ailleurs, GUILLEMET (1948) a montré que l'azote total du grain croissait de façon continue mais irrégulière jusqu'aux environs du 10e jour après la fin du palier d'eau.

Par contre, ainsi que JENNINGS l'a mis en évidence, l'azote non protéique représente une fraction très importante de l'azote total (57 p. 100) au 8e jour, puis régresse progressivement jusqu'à la maturation.

GRAHAM et *al.* (1963) a montré que l'augmentation de la teneur en protéines acido-solubles était en majeure partie responsable de l'augmentation de la teneur en azote. Par ailleurs, selon WOODMAN et ENGLEDOW (1924) et BILINSKI et MCCONNEL (1958) les gliadines, dernières protéines à apparaître dans le grain, poursuivraient leur synthèse jusqu'en fin de maturation. BISHOP (1930) a constaté la même évolution des prolamines de l'orge. Il semblerait que l'on puisse toutefois distinguer deux périodes dans la synthèse des gliadines : une période d'accumulation massive d'azote sous forme d'une prolamine mal structurée, non résolue en électrophorèse, commençant après le début de la synthèse des autres groupes protéiques ; puis une seconde période de réorganisation interne, avec perte d'azote au profit de la gluténine, conduisant très vite aux gliadines définitives, très hétérogènes en électrophorèse. On doit noter la contradiction de ces résultats avec ceux de GRAHAM et *al.* (1963) qui considère, après étude chromatographique sur carboxyméthylcellulose et électrophorèse en gel d'amidon, que les protéines du gluten demeurent inchangées tout au long du développement ; la faible résolution des gliadines obtenue par cet auteur rend néanmoins difficile l'interprétation de ses diagrammes électrophorétiques ; on sait, par ailleurs, que la chromatographie sur carboxyméthylcellulose réalise un fractionnement très insuffisant.

Il faut également remarquer la place privilégiée occupée dans cette synthèse par la gluténine qui constitue la majeure partie du matériel protéique du grain en début de développement. Perdant peu à peu de son importance relative, elle est seule à poursuivre très régulièrement sa synthèse jusqu'à maturation.

Enfin, il y a bonne concordance, entre les résultats de GRAHAM et *al.* (1963) et les nôtres en ce qui concerne l'organisation précoce des protéines solubles.

***

Dans la mesure où ces résultats obtenus à partir d'une seule série d'expériences sont généralisables, il semble que l'on puisse définir deux grandes périodes dans l'évolution du matériel protéique :

— une période de synthèse intense corrélative à un apport massif d'azote dans le grain, correspondant à l'accroissement en poids sec de celui-ci ; les trois groupes protéiques albumines-globulines, gliadines et gluténine s'accumulent chacun à vitesse constante, respectivement 50 mg, 200 mg et 105 mg N par jour dans 100 grains.

— Une période de remaniement, débutant à la fin du palier de l'eau, à l'époque où le grain commence à se déshydrater. Le grain a alors emmagasiné la totalité de son azote.

Durant cette période, une partie importante des gliadines acquiert une structure déterminée et apparemment définitive, tandis qu'une fraction plus faible semble être utilisée à l'édification complémentaire de la gluténine préalablement formée. On pourrait en effet expliquer ainsi la diminution du taux de gliadines parallèlement à l'accroissement du taux de gluténine.

Tout semble se passer comme si, dans cette dernière phase, une partie des gliadines venait s'incorporer à la gluténine pour lui conférer sa structure définitive. Une telle hypothèse apparaît assez fortement étayée par des observations récentes de Woychick et *al.* (1964) qui ont démontré la libération de composés de mobilité électrophorétique comparables à celles des gliadines, après réduction de la gluténine.

Tout en confirmant l'individualité des différents groupes protéiques présents dans le grain parvenu à maturité, ces résultats semblent donc apporter un argument favorable à certains auteurs qui considèrent la gluténine comme une molécule dont certaines structures seraient synthétisées à partir des gliadines.

Influence des facteurs génétiques et agronomiques sur la composition protéique des blés

De nombreux travaux ont montré que la richesse azotée et la composition protéique des farines étaient sous la dépendance des facteurs génétiques et agronomiques.

Il est cependant difficile de dégager, à partir de ces observations souvent contradictoires, la part propre à chacun de ces facteurs.

Par ailleurs, les travaux relatifs à la constitution protéique sont trop fragmentaires pour conduire à des interprétations significatives.

Nous nous sommes donc efforcé de préciser l'influence de ces facteurs sur la composition et la constitution protéique des blés.

Matériel d'étude

Les résultats exposés dans ce chapitre concernent quatre séries d'échantillons :

a) *Dix blés d'origine américaine,* génétiquement définis, mais cultivés dans des conditions non contrôlées :

8 blés tendres : blés d'hiver : *Omar* (Club) ; *Brevor* (Soft white) (1) ; *Lucas, Trumbull* (Soft red winter) ; *E. Triumph, Bison* (Hard red winter).
blés de printemps : *Selkirk, Conley* (Hard red spring).

2 blés durs : *Lakota, Wells.*

La richesse azotée des blés et des farines correspondantes, ainsi que les principales caractéristiques technologiques de ces dernières différencient les échantillons (tabl. 18) :

— la teneur en N total (mg N p. 100 g s.s.) des blés est comprise entre 1 660 (*Omar*) et 3 090 (*Selkirk*). Ces variations se reflètent dans la teneur des farines : 1 375 (*Omar*) et 2 910 (*Selkirk*) ;

— la teneur en gluten classe les échantillons dans le même ordre : *Omar* est le plus pauvre (5,4 p. 100 s.s.) et *Selkirk* le plus riche (17,35).

— les indices alvéographiques des 8 blés tendres s'étalent sur une gamme très étendue : de 35 (*Omar*) à 350 (*Conley*) ;

(1) On peut considérer les blés « *soft* » comme farineux et les blés « *hard* » comme vitreux.

— il en est de même des indices de sédimentation qui sont compris entre 9 (*Omar*) et 56 (*Conley*).

Ces valeurs font apparaître l'échantillonnage très complet, tant au point de vue de la richesse azotée qu'à celui des propriétés technologiques, représenté par ces 10 échantillons

TABLEAU 18

Caractéristiques des 10 blés d'origine américaine
(I. S. : indice de sédimentation)

Désignation des échantillons			Teneur en azote mg N p. 100 g ss.		Teneur en gluten p. 100 g ss.	Caractéristiques technologiques	
			blé	farine		W	I. S.
T. Vulgare	*Soft*	*Omar (Club)*	1 660	1 375	5,40	35	9
		Brévor (S. W.)	2 030	1 675	9,00	99	22
		Lucas (S. R. W.)	1 915	1 670	8,15	82	14
		Trumbull (S. R. W.)	2 160	2 000	9,80	89	24
	Hard	*E. Triumph (H. R. W.)*	2 290	2 060	11,60	137	26
		Bison (H. R. W.)	2 440	2 270	12,70	327	42
		Selkirk (H. R. S.)	3 090	2 910	17,35	275	48
		Conley (H. R. S.)	3 000	2 760	15,65	350	56
T. Durum		*Lakota*	3 010	2 870	15,75	—	—
		Wells	2 900	2 750	14,30	—	—

b) *Deux variétés de blé tendre* Cappelle et Heurtebise, récoltées en 1959 et 1962, et cultivées dans 5 aires géographiques différentes (Clermont-Ferrand, Colmar, Dijon, Rennes, et Versailles). Ces 12 échantillons représentent un matériel génétiquement défini et développé sur des sols et sous des climats différents. Leurs caractéristiques sont donnés tableau 19.

TABLEAU 19

Caractéristiques des farines Cappelle *et* Heurtebise

Variété	Année de culture	Aire de culture	Teneur en azote mg p. 100 g s.s.	W
Heurtebise	1959	C.F.	1 820	80
	—	V.	2 600	108
	1962	C.	2 060	113
		D.	2 160	90
	—	R.	1 940	71
	—	V.	2 110	64
Cappelle	1959	C.F.	1 750	173
	—	V.	2 300	220
	1962	C.	1 890	163
	—	D.	1 550	116
	—	R.	1 620	102
	—	V.	2 080	100

Les teneurs moyennes en N total des farines *Cappelle* et *Heurtebise* sont respectivement 1 820 et 2 110 mg N p. 100 g s.s., les valeurs moyennes du W étant elles-mêmes 89 et 146.

c) *Une variété de blé tendre* (Progress) *et une de blé dur* (Monferrier), cultivées [1] en pots de végétation (13,4 kg de limon à 18 p. 100 d'humidité — 6 g de phosphate bicalcique — 1 g de chlorure de magnésium — 8 g de bicarbonate de potassium).

Pour chacune, on dispose de 8 échantillons dont 4 ont été alimentés normalement en eau pendant la végétation, les autres soumis à des conditions de sécheresse, ne recevant à partir du 79e jour après le semis (soit 6 jours avant la floraison) que le 1/3 de l'eau évapotranspirée par les premiers.

TABLEAU 20

Caractéristiques des blés Progress *et* Montferrier

Échantillon	Conditions de culture			Teneur en azote du grain (N mg p. 100 g s.s.)
	Alimentation en eau	Azote tardif	Soufre	
Progress (blé tendre)				
1	Normale	—	—	1 590
2	Normale	+ N	—	2 050
3	Normale	—	+ S	1 600
4	Normale	+ N	+ S	2 040
5	Déficiente	—	—	1 790
6	Déficiente	+ N	—	2 600
7	Déficiente	—	+ S	1 740
8	Déficiente	+ N	+ S	2 520
Montferrier (blé dur)				
9	Normale	—	—	1 560
10	Normale	+ N	—	1 900
11	Normale	—	+ S	1 670
12	Normale	+ N	+ S	1 980
13	Déficiente	—	—	1 770
14	Déficiente	+ N	—	2 470
15	Déficiente	—	+ S	1 770
16	Déficiente	+ N	+ S	2 470

Outre le facteur hydrique, des conditions particulières de nutrition azotée et soufrée sont intervenues au cours du développement :

— 4 échantillons ont été carencés en soufre, les 4 autres recevant 6 g de sulfate de chaux en début de culture (+ S) ;

— après 3 doses d'azote (250 mg N par pot) fournies à tous les échantillons, 4 seulement ont bénéficié d'un apport tardif (250 mg N par pot) 3 jours avant et après la floraison (+ N).

(1) Dans le laboratoire de M. Coïc que nous remercions ici bien vivement (C. N. R. A., Versailles, Station centrale de Physiologie végétale).

Les caractéristiques de ces 16 échantillons sont rassemblées dans le tableau 20 ci-dessus.

En raison des faibles quantités disponibles, ces blés ont été étudiés à l'état de mouture entière et non de farine.

d) *Une variété de blé tendre* (Étoile de Choisy) *et de blé dur* (Montferrier) *et leurs hybrides* (Étoile de Choisy × Montferrier *et* Montferrier × Étoile de Choisy [1]). Bien que non encore fixés, les deux hybrides interspécifiques (lignées en F_5) présentent des disjonctions peu importantes.

La teneur en azote différencie le blé dur *Montferrier* (2 390 mg N p. 100 g farine s.s.) du blé tendre *Étoile de Choisy* (1 640 mg N) ; par contre, les deux hybrides possèdent une même teneur (1 950 mg N), très voisine de la moyenne des parents (2 015 mg N) (tabl. 21).

Les caractéristiques technologiques montrent que l'hybride *Étoile de Choisy* × *Monferrier* a un comportement très voisin d'un blé tendre normal alors que *Monferrier* × *Étoile de Choisy* se comporte comme un blé dur.

TABLEAU 21

Caractéristiques des farines Étoile de Choisy, Étoile de Choisy × Montferrier, Montferrier × Étoile de Choisy, Montferrier

	Teneur en azote (mg N p. 100 g s. s.)	W
Étoile de Choisy	1640	67
Ét. Choisy. X Monferrier..	1950	58
Montferrier X Ét. Choisy..	1950	164
Montferrier	2390	330

Résultats et discussion

L'étude de la composition et de la constitution protéique des 10 farines d'origine américaine conduit aux remarques suivantes :

a) *Les 10 farines se différencient par leur composition protéique* ; celle-ci est rapportée tableau 22

Les résultats sont exprimés soit en p. 100 d'azote total, soit en mg d'azote pour 100 g de farine s.s., soit enfin en p. 100 d'azote protéique.

— L'importance relative de la fraction protéique reste sensiblement constante et représente environ 96,5 p. 100 de l'azote total. Les différences constatées dans la teneur en azote total des échantillons (1 375 à 2 910 mg N p. 100 g farine s.s.) s'observent donc également dans la teneur en azote protéique (1 320 à 2 805 mg N p. 100 g farine s.s.).

— Les protéines du gluten (gliadines + gluténine) dont on extrait 1 044 mg (N p. 100 g farine s.s.) chez *Omar* et 2 470 mg chez *Selkirk* sont les principales

[1] Qui nous ont été aimablement fournis par M. Grignac que nous remercions vivement (E. N. S. A., Station d'Amélioration des Plantes de Montpellier).

TABLEAU 22

Composition azotée des farines d'origine américaine

		Blés tendres (*T. Vulgare*)								Blés durs (*T. Durum*)	
		Blés « *Soft* » (farineux)				Blés « *Hard* » (vitreux)					
		Omar	*Brevor*	*Lucas*	*Trumbull*	*E. Triumph*	*Bison*	*Selkirk*	*Conley*	*Lakota*	*Wells*
mg p. 100 g farine s. s.	N total	1 375	1 675	1 670	2 000	2 060	2 270	2 910	2 760	2 870	2 750
	N non protéique	55	78	47	58	76	54	105	102	115	96
	N protéique	1 320	1 597	1 623	1 942	1 984	2 216	2 805	2 658	2 755	2 654
	N protéines solubles	265	272	323	362	289	296	335	358	351	352
	N gliadines	645	825	860	960	1 000	1 160	1 490	1 320	1 570	1 680
	N gluténine	410	500	440	620	695	760	980	980	834	622
	N (gliad. + glut.)	1 055	1 325	1 300	1 580	1 695	1 920	2 470	2 300	2 404	2 302
p. 100 N total	N non protéique	4	4,6	2,8	2,9	3,7	2,4	3,6	3,7	4,0	3,5
	N protéique	96	95,4	97,2	97,1	96,3	97,6	96,4	96,3	96,0	96,5
p. 100 N protéique	N protéines solubles	20,0	17,0	19,9	18,7	14,6	13,4	11,9	13,5	12,8	13,2
	N gliadines	49,0	51,7	53,0	49,4	50,4	52,2	53,1	49,7	57,0	63,3
	N gluténine	31,0	31,3	27,1	31,9	35,0	34,4	35,0	36,8	30,2	23,5
	N (gliad. + glut.)	80,0	83,0	80,1	81,3	85,4	86,6	88,1	86,5	87,2	86,8
N (gliad. + glut.)/N (prot. sol.)		4,0	4,9	4,0	4,4	5,8	6,5	7,4	6,4	6,8	6,6
N (gliadines)/N (gluténine)		1,6	1,7	1,9	1,6	1,4	1,5	1,5	1,3	1,9	2,7

responsables de ces différences, en raison notamment des importantes fluctations observées dans le taux de gliadines (645 mg (*Omar*) à 1 680 (*Wells*). La teneur en protéines solubles par contre se situe toujours aux environs de la valeur moyenne 320 mg (minimum : 265 mg (*Omar*) — maximum : 358 mg (*Conley*).

— Par suite, les proportions respectives des différentes fractions sont très variables d'une farine à l'autre.

— Les protéines solubles représentent 11,9 p. 100 (*Selkirk*) à 20 p. 100 (*Omar*) de l'azote protéique, ce pourcentage étant d'autant plus faible que la teneur protéique de la farine est plus élevée. Les blés « soft » (pauvres en azote) sont donc relativement plus riches en cette fraction (moyenne : 19 p. 100) que les blés « hard » (moyenne : 13, 4 p. 100) et les blés durs (moyenne : 13,0 p. 100).

— Inversement, la teneur en protéine du gluten est plus élevée chez les blés « hard » (moyenne 86,6 p. 100) et les blés durs (moyenne 87 p. 100) que chez les blés « soft » (moyenne 81 p. 100).

— De ce fait, le rapport Protéines du gluten/Protéines solubles est nettement plus bas chez les blés « soft » (moyenne 4,5) que chez les blés « hard » (moyenne 6,5) et les blés durs (moyenne 6,7).

— La teneur en gliadines étant identique chez les blés tendres (blés « soft » : moyenne 50,8 p. 100 ; blé « hard » : moyenne 51,3 p. 100), c'est l'augmentation relative de la fraction gluténine qui est responsable de la richesse en gluten des blés « hard » (moyenne 30,3 chez les blés « soft » et 35,3 chez les blés « hard »). Les blés durs sont, par contre, bien plus riches en gliadines (moyenne 60,1 p. 100) que les blés tendres (moyenne 51 p. 100) ; leur taux de gluténine est très bas (moyenne 26,8 p. 100).

b) *Les 10 farines se différencient par la constitution de leurs gliadines et de leurs albumines-globulines*

Gliadines. — Ainsi que l'illustre le diagramme électrophorétique de la figure 25 les 10 gliadines se caractérisent par le nombre et la mobilité de leurs fractions constitutives.

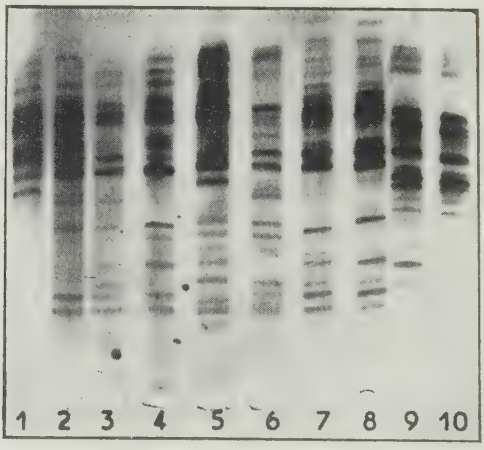


FIG. 25. — *Composition électrophorétique* (pH = 3,2) *des gliadines extraites des farines d'origine américaine:*
1. Omar ; 2. Brévor ; 3. Lucas ; 4. Trumbull ; 5. E. Triumph ; 6. Bison ;
7. Selkirk ; 8. Conley ; 9. Lakota ;10. Wells.

— On dénombre de 14 (*Omar, Bison, Selkirk, Conley*) à 19 (*E. Triumph*) constituants suivant les blés. En moyenne, les 8 blés tendres en renferment 15 et les 2 blés durs 17.

— Si les deux blés durs ont même composition qualitative, les 8 blés tendres se différencient aisément les uns des autres, soit par l'aspect général de leur diagramme (*Omar* et *E. Triumph*, par exemple), soit par l'absence ou la présence d'une seule fraction supplémentaire (*Conley* et *Selkirk*). L'estimation quantitative des fractions groupées en zone de mobilité suivant la méthode déjà exposée (p. 27) différencie moins nettement les blés (fig. 26).

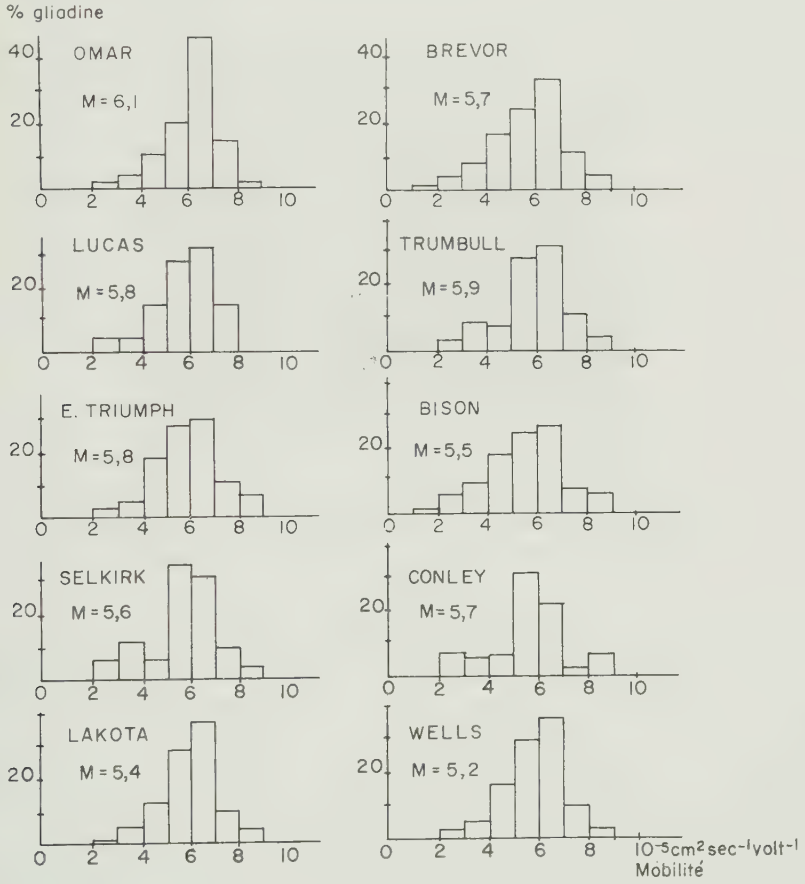


Fig. 26. — *Composition quantitative des gliadines extraites des farines d'origine américaine.*

Néanmoins :

— *Omar* se caractérise par l'importance des fractions situées dans la zone 6-7 10^{-5} cm^2 sec^{-1} $volt^{-1}$ (46 p. 100 des gliadines) .

— Les blés de printemps *Selkirk* et *Conley*, dont les constituants de mobilité 5-6 10^{-5} cm^2 sec^{-1} $volt^{-1}$ prédominent, forment un groupe à part.

Par contre, les 5 autres blés tendres et les 2 blés durs ont une répartition quantitative des fractions très voisine.

Enfin, la mobilité moyenne (définie p. 27) des blés « soft » (moyenne 5,9) est plus forte que celle des blés « hard » (moyenne 5,6) et des blés durs (moyenne 5,3).

Albumines-Globulines. — La composition électrophorétique des albumines-globulines ne permet pas la même différenciation.

Les protéines solubles des 8 blés tendres, séparées en 16 fractions, ont un comportement identique ; seules à posséder les constituants *a* et *c*, elles se différencient de celles des deux blés durs, semblables, où prédomine le constituant *b*.

En raison des traînées, visibles sur le diagramme, l'interprétation quantitative n'est pas possible ; néanmoins un simple examen visuel ne décèle pas de différence dans les proportions relatives des fractions constitutives.

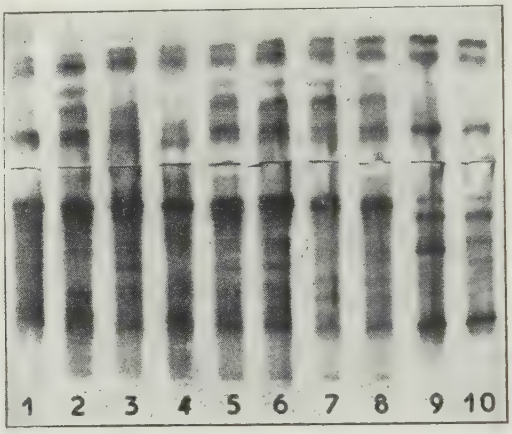


Fig. 27. — *Composition électrophorétique* (pH = 8,9) *des protéines solubles extraites des farines d'origine américaine :*
1. Omar ; 2. Brevor ;3. Lucas ; 4. Trumbull ; 5. E. Triumph ; 6. Bison ; 7. Selkirk ; 8. Conley ; 9. Lakota ; 10. Wells.

Divers chercheurs ont déjà noté des différences dans la composition et la constitution protéique des blés. Les travaux de Chabot (1940) font ressortir des différences marquées dans la teneur en protéines solubles de 12 farines issues de variétés différentes sans toutefois mettre en évidence une relation entre cette teneur et la richesse azotée de la farine ; les conditions d'extraction utilisées (traitement salin précédé d'un traitement aqueux) qui favorisent la solubilité des gliadines rendent cependant difficile l'analyse de ces résultats. Pence et *al.* (1954), estimant par la teneur en acides aminés des extraits le taux de gliadines solubilisées montre sur 32 échantillons que l'importance relative des protéines solubles diminue avec l'accroissement de la teneur en protéines de la farine, ce que confirment nos propres résultats. Les travaux relatifs aux protéines du gluten sont encore moins facilement interprétables : suivant les auteurs, et les conditions d'extraction, le taux de gliadines est en effet estimé de 32,5 à 64 p. 100 des protéines. Nos valeurs expérimentales mettent en évidence, au contraire, une teneur en gliadines sensiblement constante chez les blés tendres (50 p. 100) et les blés durs (60 p. 100) ; elles confirment le travail de Pereira (1945) qui a constaté une diminution de la gluténine (en mg p. 100 g s.s. farine) parallèle à celle des protéines totales.

Depuis quelques années seulement, l'électrophorèse a permis de comparer la constitution des groupes protéiques isolés de la farine. La différenciation des blés tendres et des blés durs par le comportement électrophorétique sur papier à pH = 6,0 des albumines a été mise en évidence par PENCE (1953). NIMMO et *al.* (1963) a également montré, par électrophorèse de polyacrylamide, à pH = 6,1, que la composition d'extrait aqueux variait d'une farine à l'autre ; par contre, ELTON et EWART (1962) sur gel d'amidon et KELLEY et KŒNIG (1963), par électrophorèse de Tiselius ont conclu à l'identité des albumines-globulines, indépendamment de la farine d'origine. Le pH auquel nous avons travaillé supprimant l'interférence possible des gliadines dont la présence nuit à l'interprétation des résultats de NIMMO et l'électrophorèse en gel d'amidon améliorant les séparations, nos propres résultats précisent ceux de PENCE. Ils ont fait l'objet d'une note préliminaire (FEILLET et BOURDET, 1964).

Des différences plus marquées ont été mises en évidence sur les protéines du gluten (GRAHAM, 1963 ; ELTON et EWART, 1962 ; KELLEY et KŒNIG, 1963 ; LEE, 1963 ; JONES et *al.*, 1959) ; le petit nombre d'échantillons analysés et l'insuffisance des séparations obtenues rendaient cependant difficile la généralisation de ces résultats. Nos propres travaux ont également permis de les préciser.

L'origine des différences observées n'a guère fait l'objet d'études systématiques. On peut admettre *a priori* que les facteurs en cause sont d'origine interne (patrimoine génétique) ou externe (traitements agronomiques).

Chaque paramètre (de composition ou de constitution) peut en effet être fonction :

— uniquement de facteurs génétiques. Dans ce cas, il sera commun à tous les échantillons de même génotype, indépendamment des conditions de culture pouvant différencier ceux-ci ;

— uniquement de facteurs agronomiques. Il sera alors commun aux échantillons, génétiquement différents, ayant subi les mêmes traitements culturaux ;

— de ces deux facteurs à la fois. L'analyse, plus complexe, devra tendre à déterminer le facteur dominant.

Nous avons donc cherché à préciser l'influence de chacun de ces deux facteurs à partir d'un matériel génétiquement et agronomiquement mieux défini que les 10 blés américains.

A. *Influence des facteurs génétiques*

Nous envisagerons ici successivement la composition, puis la constitution protéique des farines.

a) *Composition protéique.*

On a déterminé la composition protéique des quatre groupes d'échantillons : *Cappelle*, *Heurtebise*, *Progress* et *Montferrier* (tabl. 23 et 24) les échantillons d'un même groupe se caractérisant par leur origine commune et leur condition de cultures différentes (en champ, non contrôlées pour les 6 *Capelle* et les 6 *Heurtebise* ; en pots, et contrôlées, pour les 8 *Progress* et les 8 *Monferrier*) (cf. p. 60 et suivantes).

Les résultats expérimentaux montrent que la richesse azotée et la répartition des différents groupes protéiques subissent de grandes fluctuations à l'intérieur d'une même série d'échantillons génétiquement semblables ; la teneur en albumines-globu-

TABLEAU 23

Composition azotée des farines CAPPELLE *et* HEURTEBISE

Nature des farines		*Cappelle*						*Heurtebise*					
		Clermont-Ferrand 1959	Versailles 1959	Colmar 1962	Dijon 1962	Rennes 1962	Versailles 1962	Clermont-Ferrand 1959	Versailles 1959	Colmar 1962	Dijon 1962	Rennes 1962	Versailles 1962
mg p. 100 g farine s. s.	N total.....	1 750	2 300	1 890	1 550	1 620	2 080	1 820	2 600	2 060	2 160	1 940	2 110
	N non protéique	40	90	50	60	30	100	30	110	110	50	60	110
	N protéique....	1 710	2 210	1 830	1 490	1 590	1 980	1 790	2 490	1 950	2 110	1 880	2 000
	N protéines sol..	280	260	280	240	280	270	290	250	300	290	290	290
	N gliadines.....	750	1 130	960	710	780	1 050	1 030	1 400	1 110	1 150	1 010	1 120
	N gluténine	680	820	590	540	530	660	470	840	540	670	580	590
	N(gliad. + glut.)	1 420	1 950	1 550	1 260	1 326	1 710	1 500	2 240	1 650	1 820	1 590	1 710
p. 100 N total	N non protéique.	2,3	3,9	3,2	3,9	2,8	4,8	1,7	4,2	5,4	2,3	3,1	5,2
	N protéique.....	97,7	96,1	96,8	96,1	97,2	95,2	98,3	98,5	94,6	97,7	96,9	94,8
p. 100 N protéique	N protéines sol.	16,4	11,8	15,3	16,1	17,6	13,6	16,2	10,1	15,4	13,7	15,4	14,5
	N gliadines.....	43,9	51,2	52,4	47,6	49,0	53,0	57,5	56,1	57,0	54,5	53,8	56,0
	N gluténine	39,7	37,0	32,3	36,3	33,4	33,4	26,3	33,8	27,6	31,8	30,8	29,5
	N(gliad. + glut.)	83,6	88,2	84,7	83,9	82,4	86,4	83,7	89,9	84,6	86,3	84,6	85,5
N (gliad. + glut.)/N (prot. sol.)		5,1	7,5	5,5	5,2	4,7	6,3	5,2	9,0	5,5	6,3	5,5	5,9
N gliadines/N gluténine.....		1,10	1,38	1,63	1,31	1,47	1,59	2,19	1,67	2,06	1,72	1,74	1,90
W (indice alvéographique)..		173	220	163	116	102	100	80	108	113	90	71	84

TABLEAU 24

Composition azotée des blés Progress *et* Montferrier

Nature des échantillons		*Progress*								*Montferrier*							
		Sans sécheresse				Avec sécheresse				Sans sécheresse				Avec sécheresse			
		/	+ N	+ S	+ N + S	/	+ N	+ S	+ N + S	/	+ N	+ S	+ N + S	/	+ N	+ S	+ N + S
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
mg p. 100 g grains s. s.	N total	1 590	2 050	1 600	2 040	1 790	2 600	1 740	2 520	1 560	1 900	1 670	1 980	1 770	2 470	1 770	2 470
	N non protéique	82	110	90	66	104	147	78	60	150	108	135	85	114	120	56	128
	N protéique	1 508	1 940	1 510	1 974	1 686	2 453	1 662	2 460	1 410	1 792	1 535	1 895	1 656	2 350	1 714	2 342
	N protéines solubles	428	420	420	424	426	403	452	470	390	402	391	435	386	420	434	412
	N gliadines	370	590	390	630	610	1 140	690	1 250	600	800	690	850	610	1 010	640	1 040
	N gluténine	710	930	700	920	650	910	520	740	420	590	454	610	660	929	640	890
	N (gliad. + glut.)	1 080	1 520	1 090	1 550	1 260	2 050	1 210	1 990	1 020	1 390	1 144	1 460	1 270	1 930	1 280	1 930
p. 100 N total	N non protéique	5,2	5,4	5,6	3,2	5,8	5,6	4,5	2,4	9,6	5,7	8,1	4,3	6,5	4,9	3,1	5,2
	N protéique	94,8	94,6	94,4	96,8	94,2	94,4	95,5	97,6	90,4	94,3	91,9	95,7	93,5	95,1	96,9	94,8
p. 100 N protéique	N protéines solubles	28,4	21,7	27,8	21,5	25,3	16,4	27,2	19,1	27,7	22,5	25,5	23,0	23,3	17,8	25,2	17,6
	N gliadines	24,5	30,5	25,8	31,9	36,2	46,5	41,5	50,9	42,5	44,6	44,9	44,8	36,8	43,0	37,4	44,4
	N gluténine	47,1	47,8	46,4	46,6	38,5	37,1	31,3	30,0	29,8	32,9	29,6	32,2	39,9	39,2	37,4	38,0
	N (gliad. + glut.)	71,6	78,3	72,2	78,5	74,7	83,6	72,8	80,9	72,3	77,5	74,5	77,0	76,7	82,2	74,8	82,4
N (gliad. + glut.)/N (prot. solubles)		2,5	3,6	2,6	3,7	3,0	5,1	2,7	4,2	2,6	3,4	2,9	3,4	3,3	4,6	3,0	4,7
N gliadines/N gluténine		0,52	0,64	0,56	0,69	0,94	1,25	1,32	1,7	1,43	1,36	1,52	1,39	0,93	1,10	1,00	1,17

lines qui semble sensiblement constante ferait apparemment exception et serait une caractéristique génétique indépendante du milieu (tabl. 25).

Il est remarquable en effet que chez *Progress*, par exemple, la teneur maximale (470) ne soit que 1,17 fois plus élevée que la minimale (403) alors que celle des gliadines passe de 370 à 1 250 (augmentation de 3,37) et de la gluténine de 520 à 930 (augmentation de 1,79). La teneur élevée de *Progress* et *Montferrier* en protéines solubles ne doit pas nous étonner, ces deux échantillons étant étudiés sur le grain entier.

TABLEAU 25

Teneur en protéines solubles des farines Cappelle *et* Heurtebise *et des blés* Progress *et* Montferrier

(mg N pour 100 g. s.s.)

Échantillons	Protéines solubles (mg. N. p. 100 g s.s.)	Moyenne
Cappelle	280 — 260 — 280 — 240 — 280 — 270	268
Heurtebise	290 — 250 — 300 — 290 — 200 — 290	285
Progress	428 — 420 — 420 — 424 — 426 — 403 — 452 — 470	430
Montferrier	390 — 402 — 391 — 435 — 386 — 420 — 434 — 412	409

TABLEAU 26

Composition azotée moyenne des farines Cappelle *et* Heurtebise, *et des blés* Progress *et* Montferrier

Espèces		*T. Vulgare*			*T. Durum*
Variétés		*Cappelle*	*Heurtebise*	*Progress*	*Montferrier*
Nombre d'échantillons		6	6	8	8
mg N p. 100 g. produit s.s.	N total	1 865	2 115	1 991	1 949
	N non protéique	60	78	92	112
	N protéique	1 802	2 037	1 899	1 837
	N protéines solubles	268	285	430	409
	N gliadines	897	1 137	709	780
	N gluténine	637	615	760	648
	N (gliad. + glut.)	1 534	1 752	1 469	1428
p. 100 N total	N non protéique	3,5	3,7	4,7	5,9
	N protéique	96,5	96,3	95,3	94,1
p. 100 N protéique	N protéines solubles	15,1	14,0	23,4	22,8
	N gliadines	49,5	55,7	36,0	42,3
	N gluténine	35,4	30,3	40,6	34,9
	N(gliad. + glut.)	84,9	86,0	76,6	77,2
N (gliad. + glut.)/N (prot. sol.)		5,7	6,1	3,4	3,5
N gliadines/N gluténine		1,41	1,88	0,95	1,23
W		146	88	—	—

Il est néanmoins possible de faire apparaître l'influence de l'origine génétique sur cette composition protéique en considérant la moyenne des résultats relatifs aux quatre blés (tabl. 26).

On vérifie ainsi que la richesse et la répartition protéiques sont sous la dépendance de facteurs internes. Néanmoins, les différences observées dans une même variété étant supérieures à celles décelables entre deux variétés, il apparaît déjà que les facteurs agronomiques, que nous étudierons plus loin, déterminent, plus que les facteurs génétiques, la composition protéique dans les deux farines ou les deux blés analysés.

Il nous a également paru intéressant de comparer la composition protéique des deux hybrides interspécifiques *Montferrier* × *Étoile de Choisy*, *Étoile de Choisy* × *Montferrier*, à celle de leurs parents.

Le tableau 27 ci-après illustre que si l'hybridation a pour effet d'uniformiser la richesse en protéine, la répartition des groupes protéiques est inchangée, les hybrides *Montferrier* × *Étoile de Choisy* et *Étoile de Choisy* × *Montferrier* ayant respectivement une composition protéique relative comparable à celle du blé dur et du blé tendre.

TABLEAU 27

Composition azotée des farines Montferrier, Montferrier × Étoile de Choisy, Étoile de Choisy × Montferrier, Étoile de Choisy

Nature des échantillons		*Montferrier*	*Montferrier* × *Ét. Choisy*	*Ét. Choisy* × *Montferrier*	*Étoile de Choisy*
mg p. 100 g produit s.s.	N total	2 390	1 950	1 950	1 640
	N non protéique	45	25	27	20
	N protéique	2 345	1 925	1 923	1 620
	N protéines solubles	395	360	380	345
	N gliadines	1 300	1 039	909	701
	N gluténine	650	526	634	574
	N (gliad. + glut.)	1 950	1 565	1 543	1 275
p. 100 N total	N non protéique	1,7	1,3	1,4	1,2
	N protéique	98,3	98,7	98,6	98,8
p. 100 N protéique	N protéines solubles	16,8	18,7	19,7	21,2
	N gliadines	55,5	54,0	47,2	43,3
	N gluténine	27,7	27,3	33,1	35,5
	N(gliad. + glut.)	83,2	81,3	80,3	78,8
N (gliad. + glut.) /N (prot. sol.)		5,0	4,3	3,7	4,1
N gliadines/N gluténine		2,0	2,0	1,2	1,4

b) *Constitution protéique.*

Le comportement électrophorétique des albumines-globulines des 10 blés américains semblait permettre de différencier spécifiquement les blés durs des blés tendres.

Ainsi que l'illustre la figure 28, cette hypothèse se vérifie sur d'autres échantillons.

Par contre, il n'apparaît pas de différence entre les variétés d'une même espèce.

Par ailleurs, l'électrophorèse à pH = 3,2 ne met pas en évidence une différenciation aussi nette entre blés durs et blés tendres (fig. 29).

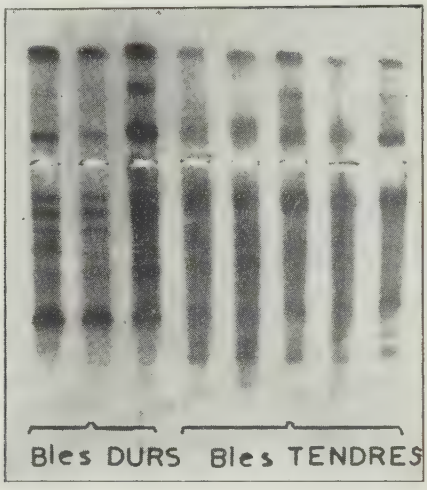


FIG. 28. — *Composition électrophorétique* (pH = 8,9) *des protéines solubles extraites de trois farines de blés durs et de cinq farines de blés tendres.*

FIG. 29. — *Composition électrophorétique* (pH = 3,2) *des protéines solubles extraites de trois farines de blé durs et de cinq farines de blés tendres.*

L'identité de *constitution des gliadines* extraites d'un même blé, indépendamment des conditions de culture, démontre par ailleurs que le nombre et la mobilité des fractions séparées (fig. 30) sont uniquement sous la dépendance du génotype, ainsi que leur proportion respective (figure 31).

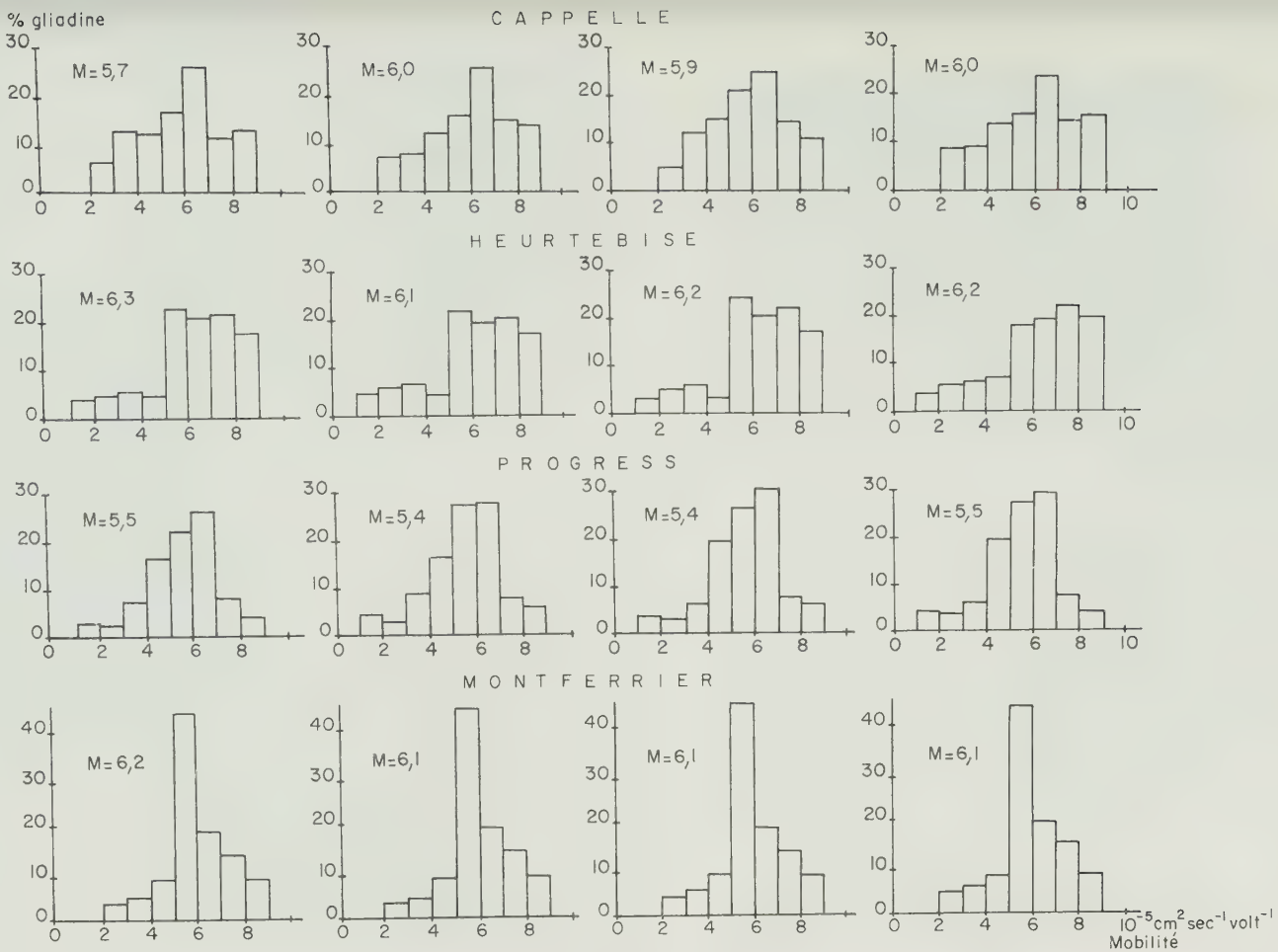


FIG. 31. — *Composition quantitative des gliadines extraites des farines* Cappelle *et* Heurtebise *et des blés* Progress *et* Montferrier.

De plus, ainsi que l'illustrent les figures 25 (p. 64) et 32 ci-après, cette constitution diffère d'une variété à l'autre et permet donc de caractérise rchaque génotype. Il ne semble pas que les blés durs forment un groupe à part.

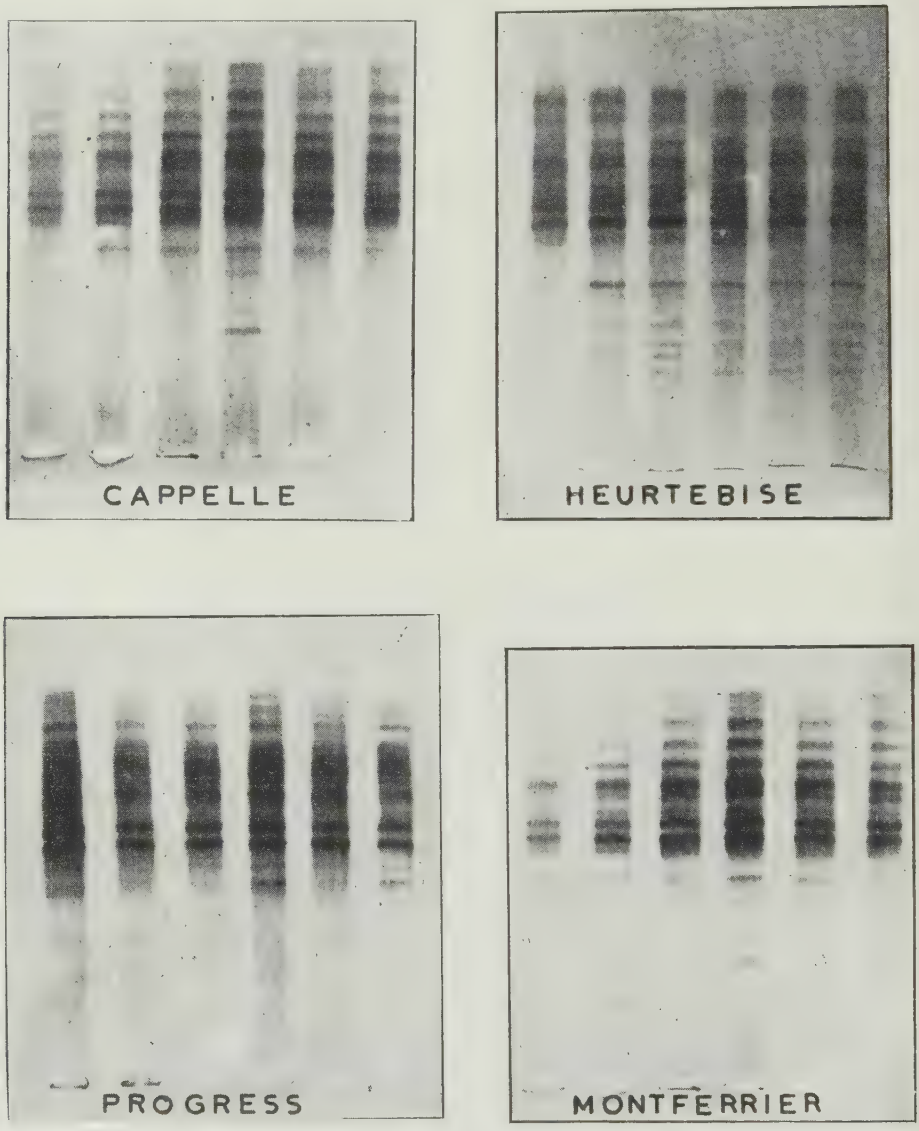


FIG. 30. — *Composition électrophorétique* (pH = 3,2) *des gliadines extraites des farines* Cappelle *et* Heurtebise *et des blés* Progress *et* Montferrier

On vérifie, de plus, que les deux hybrides *Montferrier* × *Étoile de Choisy* et *Étoile de Choisy* × *Montferrier* s'identifient aussi respectivement à *Montferrier* et *Étoile de Choisy* par leur constitution (fig. 33).

FIG. 32. — *Composition électrophorétique* (pH = 3,2) *des gliadines extraites de trois farines de blés durs et de cinq farines de blés tendres.*

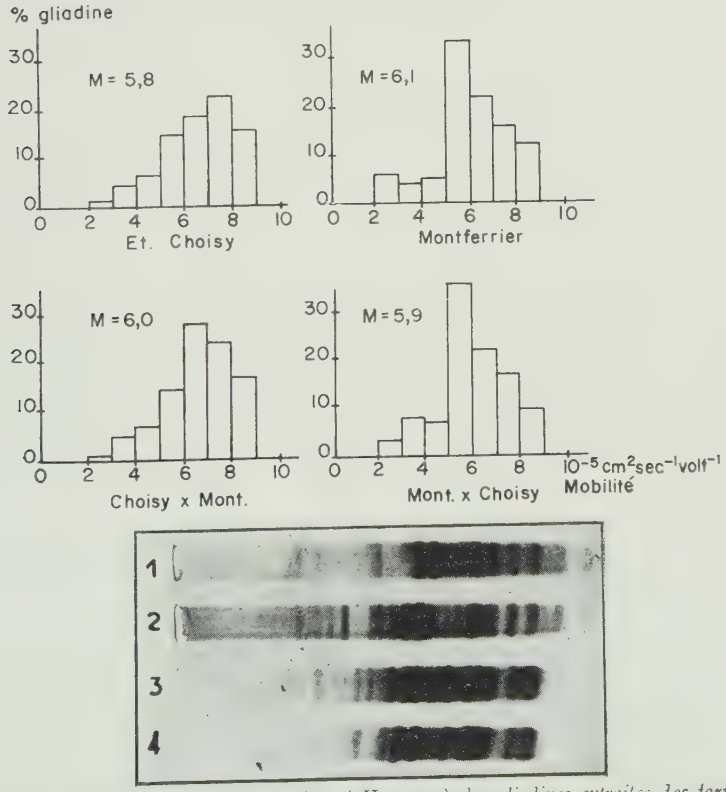


FIG. 33. — *Composition électrophorétique* (pH = 3,2) *des gliadines extraites des farinss* Montferrier (1), Montferrier × Étoile de Choisy (2), Étoile de Choisy × Montferrier (3). Étoile de Choisy (4).

B. *Influence des facteurs agronomiques*

Si la constitution protéique des blés est sous l'unique dépendance de leur origine génétique, l'étude précédente a mis en évidence l'influence prépondérante des facteurs agronomiques sur leur composition.

Nous avons donc cherché à préciser l'influence de certains facteurs externes (alimentation en eau, apport d'azote tardif, carence en soufre) sur celle-ci.

A cet effet, les 8 blés tendres *Progress* et les 8 blés durs *Montferrier* constituaient un matériel de choix. D'origine génétique bien définie, ils ont en effet été soumis à des conditions de croissance parfaitement contrôlées (voir p. 61).

Il est possible de grouper ces blés deux à deux de manière à obtenir, pour chaque variété, 4 paires d'échantillons ne se différenciant que par le même facteur et de mettre ainsi en évidence l'influence de celui-ci.

Nous avons alors déterminé l'accroissement ou la diminution en p. 100 de chaque paramètre (N total, N protéique...) sous l'influence des trois facteurs étudiés, en calculant les rapports R :

$$R = \frac{A - B}{A}.$$

A : représentant la valeur du paramètre étudié (azote total, azote non protéique...) dans des conditions d'alimentation déficiente en eau, d'apport tardif d'azote ou de carence en soufre.

B : représentant la valeur du même paramètre dans des conditions d'alimentation normale en eau, en azote, ou en soufre.

On indiquera, dans l'exposé qui suit, les valeurs moyennes, minimum, et maximum de R.

a) *Alimentation en eau.*

On constate que la sécheresse (tabl. 28) :

— se manifeste par un accroissement de la teneur en azote total identique chez le blé tendre et le blé dur (18 p. 100), conséquence d'un ralentissement du métabolisme glucidique. L'azote protéique évolue identiquement (19 p. 100 et 21 p. 100) de sorte qu'il représente une fraction constante de l'azote total.

— laisse pratiquement inchangée la quantité de protéines solubles dans le grain, de sorte que leur importance relative diminue de 10 p. 100 (blé tendre) à 16 p. 100 (blé dur).

— provoque une augmentation de la teneur en gluten, de 23 p. 100 chez *Progress* et 26 p. 100 chez *Montferrier*, qui représente donc une fraction de l'azote total de 4 à 5 p. 100 plus élevée.

Cet accroissement du taux des protéines insolubles ne concerne pas la même fraction chez *T. Vulgare* et *T. Durum*. On observe, chez *Progress*, une augmentation considérable de gliadines (83 p. 100) alors que la gluténine accuse une baisse de 14 p. 100. Chez *Montferrier*, au contraire, la quantité de gluténine s'élève de 50 p. 100 alors que celle des gliadines ne s'accroît que de 10 p. 100.

Cette différence de comportement apparaît davantage en exprimant les résultats en p. 100 N protéique ; l'importance des gliadines croît de 55 p. 100 tandis que celle

de la gluténine diminue de 27 p. 100 chez le blé tendre. Chez le blé dur, c'est la gluténine qui augmente de 24 p. 100, tandis que les gliadines décroissent de 9 p. 100.

TABLEAU 28

Variation de la composition azotée des blés Progress et Montferrier, *en p. 100 du témoin, sous l'influence de la sécheresse*

Paramètre		Blé tendre (*Progress*)			Blé dur (*Montferrier*)		
		moyenne	minimum	maximum	moyenne	minimum	maximum
mg p. 100 g s.s.	N total	18	9	27	18	6	30
	N non protéique	10	— 13	34	— 6	— 59	50
	N protéique	19	7	30	21	12	31
	Protéines solubles	4	— 4	11	2	— 5	11
	Gliadines	83	65	98	11	— 7	26
	Gluténine	— 14	— 26	— 2	50	40	57
	(Gliad. + glut.)	23	11	35	26	11	39
p. 100 N total	N non protéique	— 7	— 25	12	— 22	— 62	21
	N protéique	1	0	1	2	— 1	5
p. 100 N protéique	Protéines solubles	— 10	— 24	— 2	— 16	— 24	— 1
	Gliadines	55	48	61	— 9	— 17	— 1
	Gluténine	— 27	— 36	— 18	24	18	34
	(Gliad. + glut.)	4	1	6	5	0	7
(Gliad. + glut.)/(prot. sol.)		20	4	42	26	3	38
Gliadines/gluténine		116	82	248	— 26	— 35	— 16

Dans la mesure où ces observations peuvent être généralisées, une alimentation déficitaire en eau se traduirait donc par une tendance à uniformiser la composition protéique des blés tendres et des blés durs. C'est ce qu'illustrent les rapports Gliadines + Gluténine/Protéines solubles, et Gliadines/Gluténine, qui passent de 3,10 à 3,75 et de 0,60 à 1,3 chez *Progress*, de 3,75 à 3,9 et de 1,42 à 1,05 chez *Montferrier*.

b) *Apport d'azote tardif.*

Nous avons regroupé ci-après les résultats relatifs à l'apport d'azote tardif (tabl. 29).

Pour le blé tendre, cet apport se traduit par une augmentation moyenne des protides totaux de 38 p. 100 ; elle est de 29 p. 100 lorsque l'alimentation en eau a été normale, et de 45 p. 100 quand il y a eu sécheresse. Pour les blés durs, l'accroissement est respectivement de 32, 23 et 40 p. 100.

Il apparaît que l'enrichissement en matériel azoté consécutif à une fertilisation azotée tardive s'effectue au seul bénéfice des protéines du gluten. La quantité de

protéines solubles (mg p. 100 g s.s.) demeure en effet constante, ce qui provoque, comme en conditions de sécheresse, une diminution de l'importance relative de ces protéines (de 28 p. 100 chez *Progress* et de 21 p. 100 chez *Montferrier*). A l'inverse, on enregistre une augmentation du taux des protéines insolubles de 8 à 12 p. 100 chez *Progress* et de 3 à 10 p. 100 chez *Montferrier* ; exprimé en mg p. 100 g s.s., l'accroissement est de 52 p. 100 chez le premier, de 42 p. 100 chez le second. En fait, comme l'indiquent les résultats analytiques, l'apport d'azote tardif affecte principalement les gliadines. L'accroissement de ce groupe est d'ailleurs beaucoup plus important chez le blé tendre (72 p. 100) que chez le blé dur (46 p. 100).

TABLEAU 29

Variation de la composition azotée des blés Progress *et* Montferrier, *en p. 100 du témoin, sous l'influence d'un apport tardif d'azote*

Paramètre		Blé tendre (*Progress*)			Blé dur (*Montferrier*)		
		moyenne	minimum	maximum	moyenne	minimum	maximum
mg p. 100 g s.s.	N total	36	27	45	29	18	39
	N non protéique	6	— 27	41	17	— 37	128
	N protéique	38	29	48	32	23	42
	Protéines solubles	— 1	— 5	4	4	— 5	11
	Gliadines	72	59	87	46	23	65
	Gluténine	36	31	42	38	34	40
	(Gliad. + Glut.)	52	41	64	42	28	52
p. 100 N total	N non protéique	— 23	— 47	4	11	— 47	— 25
	N protéique	1	0	2	2	— 2	4
p. 100 N protéique	Protéines solubles	— 28	— 35	— 23	— 21	— 31	— 10
	Gliadines	25	23	28	10	0	19
	Gluténine	— 2	— 4	1	5	— 2	10
	(Gliad. + glut.)	10	8	12	7	3	10
(Gliad. + glut.)/(prot. sol.)		53	42	70	36	17	57
Gliadines/gluténine		27	23	32	5	— 9	18

La quantité de gluténine augmente beaucoup moins (36 p. 100 chez *Progress*, 38 p. 100 chez *Montferrier*), de sorte que ce dernier groupe représente une fraction sensiblement constante de l'azote protéique.

c) *Carence en soufre.*

Le tableau 30 rassemble les résultats relatifs aux modifications provoquées par une carence en soufre.

On constate que celle-ci ne modifie pas sensiblement la composition protéique :

— les teneurs en azote total et en azote non protéique demeurent pratiquement constantes ;

— de même, les taux en protéines solubles et en protéines du gluten ne présentent pas de variation significative ;

TABLEAU 30

Variation de la composition azotée des blés Progress *et* Montferrier, *en p. 100 du témoin, sous l'influence d'une carence en soufre*

Paramètre		Blé tendre (*Progress*)			Blé dur (*Montferrier*)		
		moyenne	minimum	maximum	moyenne	minimum	maximum
mg p. 100 g s.s.	N total	1	— 1	3	— 3	— 7	0
	N non protéique	59	— 9	45	34	— 6	103
	N protéique	0	— 2	1	— 4	— 8	0
	Protéines solubles	— 5	— 14	2	— 4	— 11	2
	Gliadines	— 7	— 12	— 5	— 7	— 13	— 3
	Gluténine	22	1	40	— 1	— 8	3
	(Gliad. + Glut.)	1	— 2	4	— 4	— 11	0
p. 100 N total	N non protéique	56	— 7	133	38	— 6	110
	N protéique	— 2	— 3	0	— 2	— 4	0
p. 100 N protéique	Protéines solubles	— 5	— 14	2	0	— 8	9
	Gliadines	— 8	— 13	— 4	— 3	— 5	— 1
	Gluténine	12	1	24	3	0	7
	(Gliad. + Glut.)	1	— 1	3	0	— 3	2
(Gliad. + glut.)/(prot. sol.)		6	— 4	21	— 1	— 10	10
Gliadines/gluténine		— 18	— 29	— 7	— 5	— 7	— 2

— l'importance respective des gliadines et de la gluténine est cependant modifiée au profit de cette dernière chez les blés tendres : le rapport Gliadines/Gluténine diminue en effet de 18 p. 100. Cette variation est moins sensible chez les blés durs où ce même rapport ne décroît que de 5 p. 100.

***

L'ensemble de ces résultats permet de préciser l'influence des facteurs externes et internes sur la composition et la constitution protéique des farines.

La constitution protéique semble être sous l'unique dépendance des *facteurs génétiques*. Le nombre et la mobilité des fractions constitutives des protéines solubles et des gliadines demeurent en effet sans changement, pour une même variété, quel que soit le traitement agronomique auquel elle est soumise. Nous avons donc pu

préciser et confirmer les travaux de Coulson et Sim (1964) qui ont montré l'identité de composition électrophorétique d'extraits aqueux de farines issues d'une même variété cultivée en des lieux différents ; par contre, en ce qui concerne les gliadines nos résultats ne vérifient pas ceux de Kœnig et *al.* (1964) qui ont mis en évidence des modifications dans la composition quantitative des fractions constitutives des protéines solubles et des protéines du gluten d'une même variété sous l'influence des conditions de développement de la plante.

Par ailleurs, chaque variété est caractérisée par le diagramme électrophorétique des gliadines. Coulson et Sim (1964) ont déjà noté des différences dans la constitution des protéines de faible mobilité (zone gliadine) de plusieurs variétés, mais ont néanmoins observé que les constituants de très faibles mobilités étaient communs aux variétés d'une même espèce. Ces auteurs se proposent donc de caractériser chaque espèce par les fractions protéiques de cette région. Les électrophorégrammes que nous avons obtenus confirmeraient ces résultats ; les 3 blés durs, en particulier, ont en commun les 3 bandes les moins mobiles. Néanmoins, les espèces se caractériseraient davantage par la constitution des protéines solubles, de mobilité élevée. A la condition d'opérer en milieu basique, il est en effet possible de différencier les blés tendres des blés durs par le comportement électrophorétique des albumines-globulines. Remarquons, cependant, que 3 blés durs seulement ont été examinés et que cette conclusion doit être considérée comme préliminaire. Il serait donc intéressant d'étendre cette étude à un plus grand nombre d'espèces (*T. vulgare*, *T. durum*, *T. monococum*, *T. spelta*...) et de variétés.

Notons enfin, que l'électrophorèse ne nous a pas permis d'identifier quatre constituants communs à toutes les variétés, comme Elton et Ewart (1963) ont pu le faire par immunoélectrophorèse.

La composition protéique, conditionnée dans une certaine mesure par le génotype, est plus spécialement sous la dépendance des *facteurs externes*. Une modification dans les conditions de culture se traduit en effet par des variations considérables de la teneur azotée des blés, plus spécialement de la richesse en gliadines et gluténine. La teneur en protéines solubles demeure en effet sensiblement constante, et serait donc une caractéristique variétale. De ce fait, l'importance relative de la fraction soluble est d'autant plus grande que la teneur azotée est faible.

Suivant les travaux les plus récents, l'apport de fortes doses d'azote se traduirait par un accroissement de la teneur en protéine du gluten différant selon les variétés (Austin et Miri, 1961) mais pouvant atteindre plus de 100 p. 100 (El Milligi et *al.*, 1964) ; selon Günzel (1962), cet enrichissement se ferait plus particulièrement au profit des gliadines.

De même, nous avons pu montrer que l'apport d'azote tardif se traduisait par une augmentation de la teneur en gliadines plus importante chez le blé tendre étudié (72 p. 100) que chez le blé dur (46 p. 100).

Par ailleurs, ces deux blés réagiraient différemment à une alimentation hydrique déficiente ; si la teneur en azote s'accroît chez le blé tendre et le blé dur, ce serait au profit des gliadines chez le premier, et de la gluténine chez le second.

La carence en soufre, enfin, provoquerait dans les deux cas un accroissement de la teneur en gluténine, ce qui précise les conclusions de Diehl et Dupuy (1961) selon lesquelles un apport de S provoquerait la transformation de l'azote soluble en azote protéique.

En résumé, la teneur en gluten serait donc particulièrement sensible à l'influence du milieu.

On sait que, du point de vue nutritionnel et technologique, la qualité des farines dépend, pour une grande part, de son matériel protéique. Il est donc important pour le généticien et l'agronome de connaître, puis de contrôler autant que possible, les facteurs susceptibles de provoquer de telles modifications. Cette étude montre en effet que la qualité protéique des blés ne serait pas uniquement une caractéristique variétale, mais que les conditions de culture seraient susceptibles de la modifier dans d'assez larges limites.

Influence des facteurs technologiques sur la composition protéique des farines

Modifications apportées aux constituants protéiques des farines par certaines techniques de transformation

Les techniques classiques de préparation des farines appliquées aux blés tendres comportent deux opérations essentielles et complémentaires : la réduction des produits (broyage et convertissage) et leur séparation en fonction de leur dimension (tamisage et blutage).

Les produits de réduction de l'albumen du grain aux différentes étapes de la mouture présentent une composition et des propriétés différentes ce qui permet, en réalisant des mélanges convenables, d'aboutir à des farines répondant à des besoins technologiques définis.

L'emploi du tamisage pour isoler les particules de farines en fonction de leur taille limite les possibilités de séparations. Des techniques récemment apparues permettent de pousser plus loin le fractionnement en utilisant la classification par l'air. Le procédé de turbo-séparation, dit de déplacement des protéines par voie sèche, fait intervenir une division de la farine plus poussée que les méthodes classiques (broyeurs à percussion ou à tourbillon), et une sélection par l'air des particules. Celle-ci est fondée sur les différences de densité et de taille des particules protéiques de la farine comparativement à l'amidon. Cette technique aboutit à la séparation de farines de granulométries différentes dont les plus fines sont les plus riches en protéines.

Nous avons cherché à préciser l'influence de ces conditions de réduction sur la composition et la constitution protéiques des farines.

A. *Matériel*

L'étude entreprise a porté sur 11 échantillons de farines extraites du même mélange de blé commercial dans différentes conditions [1].

Le prélèvement de la farine aux différents passages de la mouture a permis d'isoler 7 fractions (fig 34) :

— *Da*, tête de broyage, et Eα un des passages correspondants.

— *Db*, tête de convertissage, et Eβ un des passages correspondants.

[1] Ces échantillons, étudiés dans le cadre du Comité « Technologie agricole » de la Délégation générale à la Recherche scientifique et technique, ont été préparés par les *Grands Moulins de Paris*.

— *Dc*, queue de broyage et de convertissage, et Eγ un des passages correspondants.

— *F*, farine basse.

Bien qu'il ne soit pas possible d'attribuer une origine histologique précise à chacune de ces farines, on peut néanmoins considérer les fractions Da et Eα, plus représentatives du centre de l'amande que D*b* et Eβ, et, a *fortiori*, que Dc et Eγ qui correspondent à une partie de l'endosperme de plus en plus proche de l'enveloppe. F, enfin, représente la zone la plus externe.

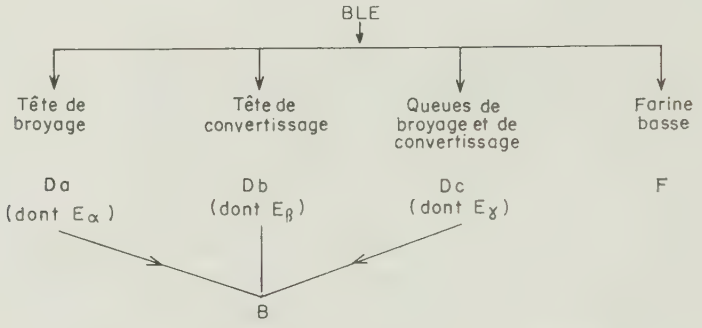


FIG. 34. — *Conditions d'obtention des farines industrielles.*

Une réduction complémentaire de la farine totale et sa division par turboséparation conduit à 3 fractions C_1, C_2 et C_3 de granulométrie et de richesse azotée variables.

Diamètre des particules	mg N total p. 100 g s.s.
Fraction fine C_1 < 18 μ (moyenne : 10,5 μ)	3 270
Fraction moyenne C_2 18 μ à 40 μ (moyenne : 22 μ).....	1 260
Fraction grosse C_3 > 35 μ (moyenne : 53 μ).....	2 200

B. *Résultats*

Nous envisagerons successivement les farines de passage (Da, Eα, Db, Eβ Dc, Eγ) et les farines turboséparées comparativement à la farine totale B.

a) *Farines de passage.*

Ainsi que les résultats rassemblés tableau 31 le mettent en évidence, les farines de passage ont une *composition protéique* différente.

— La teneur en azote total est d'environ 2 000 mg N p. 100 s.s. pour chacune des farines, excepté Eγ (2 600) et F (3 030), bien plus riches.

— Les farines Eγ et F sont caractérisées par des taux de N non protéique particulièrement élevées (7 et 13 p. 100 N total), comme il en est des parties périphériques de l'endosperme du grain dont elles sont issues.

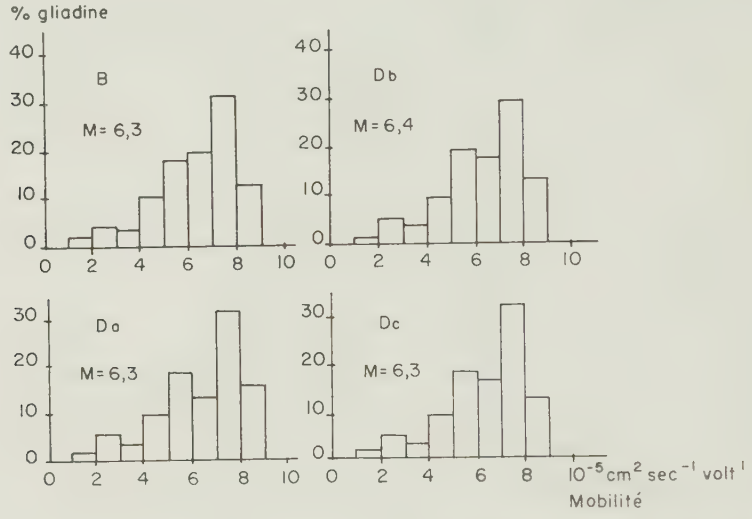
De même leur teneur en albumines-globulines est supérieure à 21 p. 100, alors que celle des autres fractions oscille entre 14,9 et 19,2 p. 100.

TABLEAU 31

Composition azotée des farines industrielles

Nature des échantillons		Farine classique	Turbo-séparation			Mouture classique						
			Fraction fine	Fraction moyenne	Fraction grosse	Tête de broyage		Tête de convertissage		Queues		Farine basse
										de broyage	de convert.	
		B	C_1	C_2	C_3	D*a*	Eα	D*b*	Eβ	D*c*	Eγ	F
mg p. 100 g farine s. s.	N total	2 020	3 270	1 260	2 200	1 980	1 830	2 000	1 860	2 380	2 600	3 030
	N non protéique	30	105	55	70	80	45	50	50	30	185	400
	N protéique	1 990	3 165	1 205	2 130	1 900	1 785	1 950	1 810	2 290	2 415	2 630
	N protéines solubles	340	345	225	320	365	285	310	270	420	520	680
	N gliadines	970	1 730	515	1 035	910	880	945	900	1 140	1 220	1 000
	N gluténine	680	1 090	465	775	625	620	695	640	730	675	950
	N (gliadines + gluténine)	1 650	2 820	980	1 810	1 535	1 500	1 640	1 540	1 870	1 895	1 950
p. 100 N total	N non protéique	1,5	3,2	4,4	3,2	4,0	2,5	2,5	2,7	3,8	7,1	13,2
	N protéique	98,5	96,8	95,6	96,8	96,0	97,5	97,5	97,3	96,2	92,9	86,8
p. 100 N protéique	N protéines solubles	17,0	10,9	18,7	15,0	19,2	16,0	15,9	14,9	18,9	21,5	25,8
	N gliadines	48,7	54,8	42,8	48,5	47,8	49,3	48,5	49,7	49,8	50,5	38,0
	N gluténine	34,3	34,3	38,5	36,5	33,0	34,7	35,6	35,4	31,8	28,0	36,2
	N (gliadines + gluténine)	83,0	89,1	81,3	85,0	80,8	84,0	84,1	85,1	81,6	78,5	74,2
N (gliad. + glut.)/N (prot. solubles)		4,8	8,2	4,3	5,7	4,2	5,2	5,3	5,7	4,4	3,6	2,8
N gliadines/N gluténine		1,4	1,6	1,1	1,3	1,5	1,4	1,4	1,4	1,6	1,8	1,1
W		144	467	62	163	114	115	154	142	173	241	—
Indice de sédimentation		27	2	5	30	27	21	35	32	25	20	20
Diamètre moyen des particules (en μ)		54	10,5	22	53	41	37	63	60	38	27,5	41

— Le taux de gliadines ne différencie guère les farines (47,8 à 50,5 p. 100), si ce n'est la farine basse F caractérisée par sa faible teneur (38 p. 100) ; la teneur en gluténine, qui varie de 28,0 (Eγ) à 36,2 p. 100 (F) est un peu moins constante.



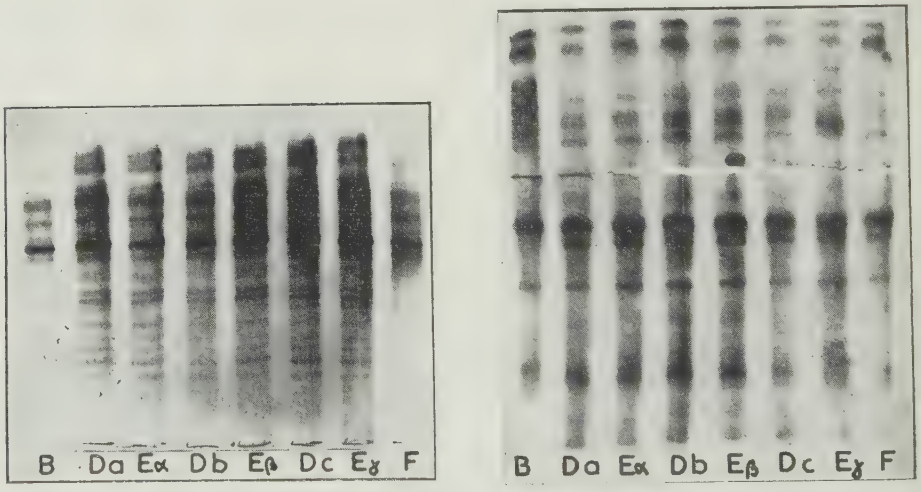


Fig. 35. — *Composition électrophorétique des protéines solubles* (pH = 8,9) *et des gliadines* (pH = 3,2) *extraites des farines de passage.*
(à gauche : gliadines ; à droite : protéines solubles)

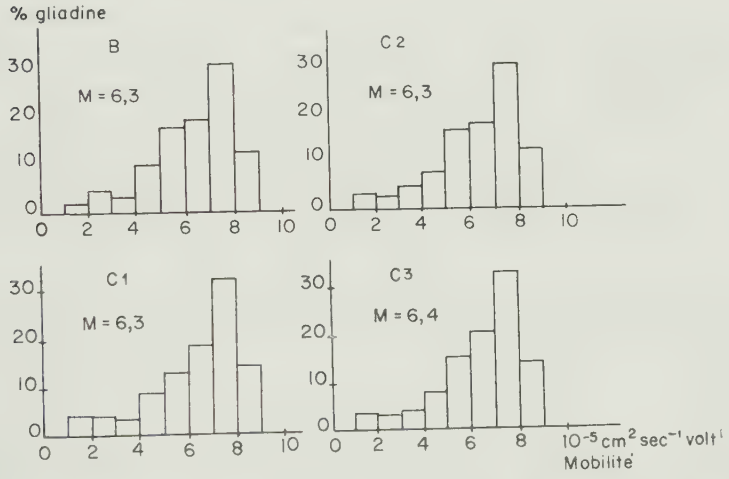
Le rapport gliadines/gluténine rend mieux compte des différences observées : il est très élevé pour Eγ (1,80), très faible pour F (1,1) sensiblement constant pour les autres farines (1,4 à 1,6).

On a par ailleurs tenté de préciser si la composition en protéines de la farine B, reflétait celle des farines constituantes *Da*, *Db*, *Dc*. Voici parallèlement aux propor-

tions respectives de D*a*, D*b*, D*c*, dans le mélange B, les valeurs auxquelles conduisent les données précédentes :

	D*a*	D*b*	D*c*	Total	B
P. 100 de B	21,3	61,2	17,5	100	—
N total	422	1 224	416	2 062	2 020
N Protéines solubles	78	190	73	341	340
N Gliadines	194	578	200	972	970
N Gluténine	133	425	128	696	680

mg N p. 100 g s.s.



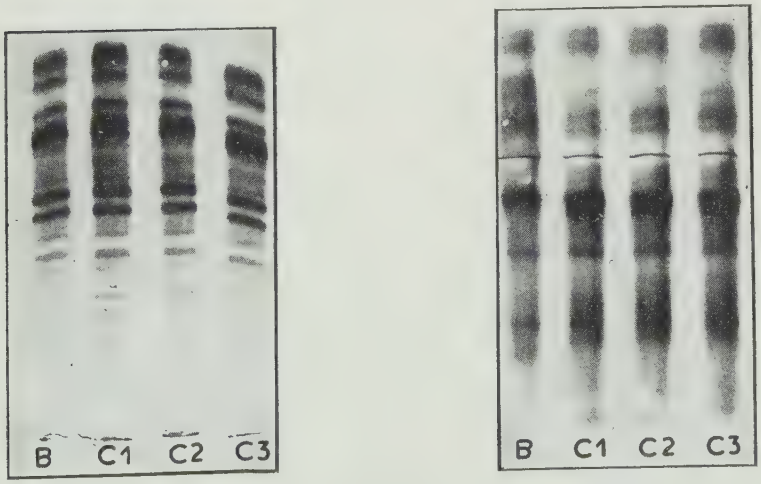


FIG. 36. — *Composition électrophorétique des protéines solubles* (pH = 8,9) *et des gliadines* (pH = 3,2) *extraites des farines turboséparées.*
(à gauche : gliadines ; à droite : protéines solubles)

Il y a donc bonne concordance dans les résultats.

L'étude électrophorétique menée parallèlement montre que la constitution protéique des protéines solubles et des gliadines est constante, ainsi que l'illustrent les diagrammes de la figure 35

b) *Farines turboséparées*

Les trois farines C_1, C_2, C_3 se différencient par leur *composition protéique.*

— La fraction fine C_1 est la plus riche en azote total (3 270 mg p. 100 g s.s.) et en azote protéique (3 165 mg) ; la fraction moyenne, beaucoup plus pauvre, a une teneur à peine supérieure au 1/3 de celle de C_1 (1 260 et 1 205 mg) ; la fraction grosse C_3 a une teneur moyenne (2 200 mg et 2 130 mg) voisine de celle de la farine totale B (2 020 mg et 1 990 mg).

— Ces différences affectent plus spécialement les gliadines et la gluténine. Les déficits en protéines solubles de C_1 et C_2 par rapport à C_3 sont en effet respectivement de 120 et 25 mg alors que celui en protéines du gluten est de 1 840 et 1 010 mg.

— De ce fait, le pourcentage d'albumines-globulines est d'autant plus élevé que la farine est pauvre en azote (18,7 p. 100, 15 p. 100 et 10,9 p. 100 des protéines chez C_2, C_3 et C_1). Inversement le gluten représente 89,1 p. 100 des protéines chez C_1 et 81,3 p. 100 seulement chez C_2. La teneur de C_3 (85 p. 100) est proche de B (83 p. 100).

Par contre la *constitution* des albumines-globulines et des gliadines extraites des 4 farines est identique (fig. 36).

C. *Discussion*

La farine est constituée de particules de formes et de dimensions très variables, allant de 1 à 175 μ, et même 200 μ. C'est en quelque sorte la grosseur de ces particules qui définit leur nature. Près de 75 p. 100 de l'amidon est présent sous forme de grains isolés de diamètre compris entre 20 μ et 40 μ, 15 p. 100 se retrouvent dans les particules inférieures à 20 μ tandis que les 10 p. 100 résiduels se présentent sous l'état d'agglomérats constitués soit uniquement d'amidon, soit d'un mélange d'amidon et de protéines. Une fraction importante de ces dernières existe également à l'état libre sous forme de particules très petites dont les dimensions ne dépassent pas 20 μ.

Selon l'opinion émise par Hess (1954), ces particules protéiques de très petite taille occuperaient les vides existant entre les grains d'amidon (protéines interstitielles) alors que d'autres protéines, de composition et de propriétés différentes (protéines adhérentes) demeureraient fixées à la périphérie des grains d'amidon et formerait ainsi des agglomérats de taille plus importante.

Cette répartition histologique des constituants protéiques de la farine explique, ainsi que l'ont montré Jones et *al.* (1959) et bien d'autres, et comme le confirment les précédents résultats, que le classement par l'air aboutisse aux fractions fines, moyennes et grosses caractérisées par des teneurs en protéines totales très différentes.

Moins nombreux sont les auteurs qui se sont préoccupés de préciser la composition protéique des farines classées par l'air.

Jones et *al.* (1959) a montré que les proportions des protéines solubles dans l'eau

étaient légèrement plus élevées dans la fraction moyenne et un peu plus faibles dans la fraction fine que dans la farine totale. WRIGLEY (1963) a mis en évidence une évolution identique des protéines solubles dans le pyrophosphate de sodium et une évolution inverse des protéines du gluten ; ce dernier auteur considère cependant que les différences observées sont mineures. Il semble néanmoins que les conditions d'isolement des protéines plus spécifiques que nous avons mises en œuvre nous aient permis de démontrer que le remaniement protéique entraîné par la turboséparation n'était pas négligeable. C'est ce qu'illustre le rapport N (gliadines + gluténine) N(protéines solubles) qui varie du simple au double de C_1 (4,3) à C_2 (8,2).

Vu que ces deux farines se différencient qualitativement par la présence des protéines interstitielles dans C_1, il semblerait donc que celles-ci soient essentiellement constituées des protéines du gluten.

Par ailleurs, le dosage distinct des gliadines et de la gluténine montre que les proportions respectives de ces deux groupes varient d'une farine à l'autre, ce qui semble prouver, contrairement à l'opinion de WRIGLEY (1963), que les protéines du gluten ne préexisteraient pas dans le grain en unités morphologiquement définies.

JONES et DIMLER (1962), par électrophorèse en gel d'amidon et en veine liquide, ELTON et EWART (1964) par électrophorèse en gel d'amidon, WRIGLEY (1963) par chromatographie sur carboxyméthylcellulose, ont montré que les extraits acétiques des farines turboséparées étaient qualitativement identiques.

Les études électrophorétiques des groupes protéiques préalablement isolés confirment l'identité de constitution de ces protéines. Indépendamment de leur situation histologique dans l'amande, les nombreuses fractions constitutives des albumines-globulines ou des gliadines demeurent donc qualitativement et quantitativement identiques. Il est donc probable qu'elles sont liées les unes aux autres sous forme d'un complexe défini qui serait dissocié au cours de leur étude.

A notre connaissance, aucun travail n'a cherché à préciser la composition protéique des farines de passage. Excepté les farines F et Eγ, histologiquement bien caractérisées, notre étude montre que la composition protéique ne différencie pas nettement les farines ainsi isolées. Ces résultats confirment néanmoins l'identité de constitution des albumines-globulines et des gliadines, indépendamment des zones de prélèvements dans le grain ; le rapport gliadines/gluténine variant de 1,80 (Eγ) à 1,1 (F), ils étayent également l'hypothèse selon laquelle ces deux protéines ne seraient pas associées à l'intérieur du grain.

Il ressort de cette étude que les parties périphériques de l'amande, constituants essentiels de la farine basse et de la farine de queue de convertissage, ont une composition caractérisée par leur richesse en azote non protéique et en protéines solubles qui les différencie du reste de l'albumen.

Par ailleurs, les protéines interstitielles dont la farine C_1 reflète la composition, seraient principalement constituées de gliadines et de gluténine.

L'identité de constitution des groupes protéiques de différentes farines extraites d'un même blé indique que les albumines-globulines et les gliadines ont la même structure, indépendamment de leur situation à l'intérieur du grain.

Les différences observées dans la valeur du rapport gliadines/gluténine montrent toutefois que le gluten ne préexisterait pas dans le grain sauf, peut-être, sous forme d'associations dans lesquelles les proportions respectives des deux protéines constitutives seraient variables.

Composition protéique et caractéristiques technologiques des farines

Depuis longtemps, les céréalistes se sont préoccupés de relier les aptitudes technologiques des farines à leur composition biochimique et ont mis en évidence l'importance du matériel protéique.

Dusseau (1932) a établi une corrélation, faible mais significative, entre la richesse azotée de la farine et son W ; au contraire, Feyte et Potel (1934) ont montré que des blés riches en gluten pouvaient avoir une faible valeur boulangère. Nuret et Schœffter (1958), par ailleurs, ont relié l'extensibilité des farines à leur teneur en azote.

Fleurent (1896) estimait que la meilleure qualité boulangère correspondait à un rapport gluténine/gliadines = 1/3 ; selon Snyder (1905), le taux de gliadines serait le facteur dominant. Kosmin et Pepzowa (1934) et Feyte (1935), ainsi que Chabot (1940), par contre, ont montré l'insuffisance de ces critères pour apprécier la force des blés. Javillier et Djelatides (1934) ont exprimé la valeur boulangère par le rapport N_2/N_3 fourni par 2 des 4 fractions isolées de la farine suivant une méthode plus nuancée. Rousseaux et Sirot (1918) ont attaché une grande importance au rapport N total/N soluble, tandis que Pence et *al.* (1954 *b*) ont démontré l'influence exercée par le rapport albumines/globulines. Laws et France (1948), enfin, ne purent davantage caractériser les farines par le comportement électrophorétique des protéines isolées.

Il semble donc bien difficile, actuellement, de relier la qualité boulangère à la composition protéique, sinon en précisant qu'un W élevé correspond le plus souvent à une forte teneur en azote.

Mettant à profit les résultats expérimentaux obtenus au cours de notre travail, nous nous sommes donc proposé, dans ce dernier chapitre, de rechercher les relations qui pourraient être éventuellement établies entre la composition protéique des farines et leurs caractéristiques technologiques.

A. *Matériel d'étude*

Les résultats dont il va être fait état ont été obtenus sur 4 séries d'échantillons déjà analysés :

8 farines américaines (voir p. 59) ;
6 farines *Heurtebise* (voir p. 60) ;
6 farines *Cappelle* (voir p. 60) ;
10 farines industrielles (voir p. 81).

La composition protéique de ces farines a été rapportée tableaux 22, 23 et 31

B. *Résultats et discussion*

On a comparé la composition et la constitution protéique des blés à l'indice alvéographique W de Chopin, classiquement utilisé en France, qui traduit la ténacité et l'extensibilité des pâtes, et à l'indice de sédimentation de Zeleny (1947), fondé sur les propriétés de gonflement des protéines du gluten en milieu acide.

a) *Composition protéique.*

On n'a pu mettre en évidence aucune relation apparente reliant les valeurs W et IS :

— A la quantité de « protéines solubles » présentes dans la farine (mg N pour 100 g s.s) ou à leur importance par rapport aux autres formes azotées (p. 100 N protéique).

— A la quantité de gliadines ou de protéines du gluten (mg p. 100 g s.s).

— Au taux de gliadines ou de gluténine (p. 100 N protéique).

— Au rapport gliadines/gluténine.

— Au rapport protéines du gluten/protéines solubles.

Il semble, par contre, qu'il existe une certaine corrélation entre W ou IS et la teneur des farines en gluténine (mg N p. 100 g s.s) ; c'est en effet ce qui ressort du tableau 32 et des figures 37 et 38.

TABLEAU 32

Influence de la teneur en gluténine et du rapport gliadines/gluténine sur la valeur du W et de l'indice de sédimentation

	Gluténine mg p. 100 s.s.	Gliadines. / Gluténine.	W		Gluténine mg p. 100 s.s.	Gliadines. / Gluténine.	W	I.S.
	680	1,10	173		680	1,4	144	2,7
	820	1,38	220		1 090	1,6	467	—
	590	1,63	163		465	1,1	62	5
	540	1,31	116	farines industrielles	775	1,3	163	30
Cappelle	530	1,47	102		625	1,5	114	27
	660	1,59	100		620	1,4	115	21
					695	1,4	154	35
					640	1,4	142	32
					730	1,6	173	25
					675	1,8	241	20
	470	2,19	80		410	1,6	35	9
	840	1,67	108		500	1,7	99	22
	540	2,06	113		440	1,9	82	14
	670	1,72	90		620	1,6	89	24
Heurtebise	580	1,74	71		695	1,4	137	26
	590	1,90	64	farines américaines	760	1,5	327	42
					980	1,5	275	48
					980	1,3	350	56

W serait une fonction approximativement exponentielle de la teneur en gluténine tandis que IS en serait une fonction linéaire.

b) *Constitution protéique*

Les 10 farines industrielles, de même constitution protéique (voir p. 86) possèdent des W et des indices de sédimentation extrêmement différents, pouvant varier

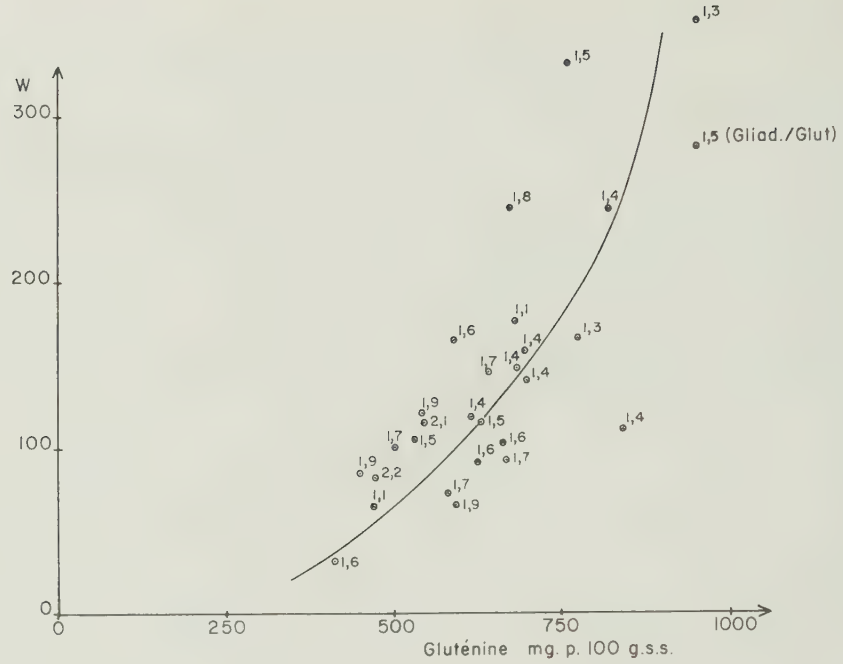


FIG. 37. — *Influence de la teneur en gluténine et du rapport gliadines/gluténine sur la valeur du W.*

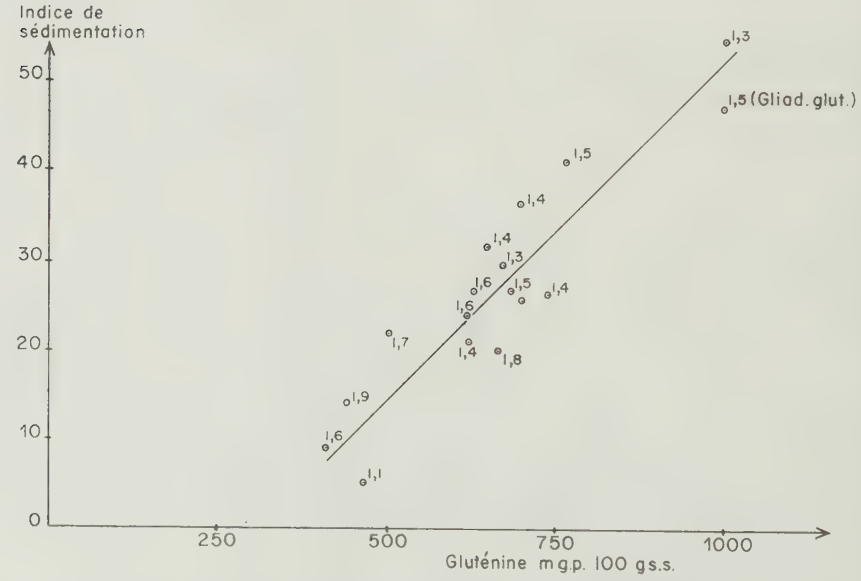


FIG. 38. — *Influence de la teneur en gluténine et du rapport gliadines/gluténine sur la valeur de l'indice de sédimentation.*

dans le rapport de 1 à 8. Les W des farines *Cappelle* et *Heurtebise* subissent également d'importantes fluctuations.

Par ailleurs, ainsi que nous l'avons montré plus haut et que l'illustre l'exemple ci-dessous, deux farines de constitution protéique différente, mais dont la teneur en gluténine et la valeur du rapport gliadines/gluténine sont voisines, possèdent sensiblement les mêmes W et IS.

Farine	Gluténine mg p. 100 g s.s	Gliadines / Gluténine	W	IS
Industrielle (Eβ)	640	1,4	142	32
E. Triumph	695	1,4	137	26

La valeur W ou IS semble donc sans relation apparente avec la constitution protéique des protéines solubles et des gliadines.

***

Ces résultats confirment les très anciens travaux de Guthrie (1896) qui a montré que les farines fortes avaient une teneur élevée en gluténine et que l'accroissement de la quantité de gliadine conduisait à un gluten collant ; Woodman (1922) et Sharp et Gortner (1923) devaient également mettre en évidence l'importance des gluténines qui posséderaient des propriétés physiques différentes dans une farine forte et dans une farine faible. Dans leur majorité, les auteurs ne partagent cependant pas ce point de vue, (Fleurent. (1896); Blish et Pinckney, (1924); Harris et Bailey, 1937) ...). Il faut néanmoins noter que les méthodes d'extraction utilisées dans ces travaux différenciaient incomplètement les gliadines de la gluténine, de sorte que les divergences observées dans tous ces résultats ne doivent pas nous surprendre. En raison de la plus grande spécificité de nos dosages, il est probable que les relations que nous avons établies correspondent davantage à la réalité.

Bien que le nombre d'observations demeure trop limité pour que de telles conclusions soient généralisables, et en faisant les réserves nécessaires sur la validité des tests utilisés pour l'appréciation de la force, ces constatations préliminaires soulignent en définitive le rôle prépondérant de la gluténine. La constitution des gliadines (mobilité et nombre des fractions) par contre, ne conditionnerait pas la force.

Des recherches ultérieures sur une gamme plus étendue d'échantillons permettraient peut-être de préciser ces résultats. Ces conclusions provisoires semblent néanmoins assez proches de celles rapportées récemment par Bourdet (1964) selon lesquelles la qualité protéique optimum serait atteinte pour une teneur en protéines qui ne serait pas nécessairement la plus élevée, l'accroissement du taux protéique pouvant se traduire selon les cas par une amélioration ou un amoindrissement de la force des farines.

CONCLUSION

Le travail que nous avons entrepris a permis de préciser nos connaissances sur *la biochimie et la physicochimie des protéines du blé.*

Il est apparu qu'il existait 4 groupes protéiques parfaitement individualisés tant par leur mobilité électrophorétique que par leur composition chimique. En particulier, nous avons pu mettre en évidence la nature nucléoprotéique des globulines, confirmer l'existence de complexes lipidoprotéiques dans la gluténine, et en moindre importance, dans les albumines-globulines, et différencier les protéines par leur composition en acides aminés. De plus, nous avons montré qu'il était possible d'isoler ces 4 groupes par solubilisation différentielle, confirmant ainsi les vues d'OSBORNE sur la composition protéique des farines. Nous avons néanmoins précisé qu'environ 5 p. 100 des gliadines totales se solubilisaient dans NaCl 0,5 M.

L'électrophorèse a permis de préciser l'hétérogénéité des protéines ainsi isolées, gluténine exceptée : les gliadines se résolvent en 15 à 20 fractions, les albumines en une quinzaine, et les globulines en 2 ou 3. Il y aurait donc un total de 30 à 40 constituants protéiques distincts dans la farine.

Nous avons démontré que cette hétérogénéité était sous la dépendance du patrimoine génétique des blés. Celle des albumines serait « spécifique » et permettrait de différencier les blés durs des blés tendres ; celle des gliadines, par contre, serait « variétale » et caractériserait chaque variété. Il semble donc que la constitution protéique des végétaux serait fonction du génotype.

Par contre, la teneur en protéine des farines serait davantage liée aux facteurs externes. Ceux-ci seraient en effet susceptibles de provoquer de très importantes fluctuations autour d'une valeur moyenne déterminée par le génotype. La teneur en protéines solubles serait néanmoins un facteur héréditaire.

Nous avons montré, par ailleurs, qu'il existerait deux phases dans l'évolution du matériel protéique : une phase de synthèse corrélative à une arrivée massive d'azote, suivie d'une phase de remaniement au cours de laquelle les gliadines atteindraient leur structure finale et participeraient à l'édification complémentaire de la gluténine.

On a confirmé, enfin, que la composition protéique variait d'une région du grain à l'autre. En particulier, les fluctuations du rapport gliadines/gluténine semblent montrer que le gluten ne préexiste pas dans le grain, du moins sous sa forme définitive, à moins que, dans une même farine, les protéines constitutives du gluten ne soient associées de manière différente.

Il serait intéressant de vérifier cette dernière hypothèse. Au lieu de solubiliser le gluten et de rompre presque nécessairement le complexe gliadines-gluténine, ainsi que l'ont fait la majorité des auteurs, cette étude devrait sans doute être entreprise

sur le gluten « brut ». On pourrait alors, par exemple, tenter de déterminer la structure de ce matériel en combinant des analyses biochimiques, action des réducteurs ou des enzymes (protéolyse) à des études physiques (diffraction aux rayons X).

Sur le plan agronomique et technologique, il apparaît que la force des blés est davantage conditionnée par leur composition que par leur constitution protéique. Une teneur élevée en gluténine conduirait en effet à un W élevé. Pour une variété donnée, la force maximum serait donc reliée à une composition protéique optimum et non nécessairement à une teneur maximum.

On peut agir sur cette composition protéique en modifiant les conditions de fertilisation : un apport d'azote tardif, par exemple, accroît la teneur en azote au profit, essentiellement, des gliadines, tandis qu'une carence en soufre augmente la proportion de gluténine.

Nous avons montré, également, que les techniques modernes de mouture (turboséparation) permettaient d'obtenir, à partir d'un même blé, des farines de composition différente.

Dans la mesure où des études ultérieures confirmeraient ces résultats, les généticiens devraient donc orienter la sélection dans le sens d'une augmentation de la capacité de synthèse de la gluténine, les agronomes rechercher les conditions de culture favorisant au maximum l'accroissement de cette protéine, et les technologistes améliorer les méthodes de réduction et de sélection des farines pour modifier dans le même sens leur composition protéique.

Par ailleurs, la spécificité de la constitution protéique des blés pourrait aider le généticien dans l'identification des hybrides intervariétaux ou interspécifiques obtenus.

SUMMARY

Contribution to the study of wheat proteins
influence of genetic, agronomic and technological factors

After recalling that wheat proteins, usually classified into 4 groups in accordance with simple criteria of solubility, actually represent an extremely complex and heterogeneous material, the author describes the experimental methods used in his work : extraction of the protein groups, quantitative analysis and identification of the nucleic acids, chromatography on Sephadex G 25, electrophoresis in starch gel... This last technique, which has been the permanent criterion of identification of the proteins extracted, is more particularly studied.

The author specifies the *physicochemical properties of the proteins* of wheat. He demonstrates the existence of four protein groups perfectly individualized both by their electrophoretic mobility and by their chemical composition. In particular, he brings out the nucleoproteinic nature of the globulins, confirms the presence of lipoproteinic complexes in the glutenins and in the albumin-globulins and differentiates the proteins by their composition in amino-acids. He shows, finally, that it is possible to isolate these four groups by differential solubilization, thus confirming the views of Osborne on the protein composition of flours.

By electrophoresis in starch gel, the gliadins are resolved into 15 to 30 fractions, the albumins into some 15 and the globulins into 2 or 3. According to the author, there should therefore be some 30 to 40 distinct protein constituents in flour.

It is shown that this heterogeneity is dependent upon the *genetic heritage* of wheats. That of the albumins is presumably « specific » and makes it possible to differentiate *Triticum durum* from *Trticum vulgare*; that of the gliadins is « varietal ».

Studying the influence of a delayed supply of nitrogen, of the drought and of a sulphur-defi-

cient food supply, the influence of *external factors* on the protein composition of wheats is next shown. The latter seems to fluctuate around mean values determined by the genotype : a belated nitrogen supplying considerably increases the rate of gliadin ; a sulphur deficiency increases that of glutenin.

The study of the evolution of the protein material in the course of maturation of the grain leads the author to distinguish two phases in the formation of wheat proteins : a phase of synthesis correlative to a wholesale contribution of nitrogen followed by a phase of readjustment in the course of which the gliadins are presumed to achieve their definitive structure and to participate in the complementary building up of glutenin.

The last part of this work is devoted to *technological studies*. It appears that the strenght of wheats is conditioned more by their composition than by their protein constitution. A strong glutenin content leads to a high W. The protein composition of sifted flours and of turbo-separated flours is finally indicated.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Austin A., Miri R. K.,1961. Effect of nitrogen and irrigation on the protein and gluten content of some *New Pusa* wheats. *Indian J. plant. Physiol.*, **4**, 150-155.

Ayrapa T., 1957. On the presence of nucleoproteins and lipoproteins in the salt-soluble protein fraction of barley. *Acta Chem. Scand.*, **11**, 1565-1575.

Bailey C. H., 1944. The constituants of wheat and wheat products. *Reinhold Publ. C° N. Y.*

Bilinski E., McConnel W. V., 1958. Studies on wheat plants using carbon-14 compounds. VI. ¡Some observations on protein biosynthesis. *Cereal Chem.*, **35**, 68-81.

Bishop L. R., 1930. The composition and determination of barley proteins. III. Fourth report on barley proteins. The proteins of barley during development and storage of mature grain. *J. Inst. Brew.* **36**, 336-349.

Blish M. J., 1945. Wheat gluten. *Adv. Protein Chem.*, **2**, 337-359.

Blish M. J., Pinkney A. J., 1924. The identity of gluten proteins from various wheat flours. *Cereal Chem.*, **1**, 309-316.

Bourdet A., 1956. Les protides des céréales. *Ann. Technol., agric.*, **2**, 181-318.

Bourdet A., 1964. Qualité protéique et force des blés. *Ann. Technol. agric.*, **13**, 45-66.

Bourdet A., Feillet P., Mettavant F., 1964. Sur le comportement électrophorétique des prolamines du blé en gel d'amidon. *C. R. Acad. Sci.*, **256**, 4517-4520.

Briggs A. P., 1922. A modification of the Bell-Doisy phosphate method. *J. biol. Chem.* **53**, 13-16.

Brohult S., Sandegren E., 1954. In Neurath H., Bailey K., *The Proteins*, vol.2, 498, Academic Press, N. Y.

Burton K., 1956. A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of desoxyribonucleic acid. *Biochem. J.*, **62**, 315-323.

Chabot G., 1940. Nouvelles recherches sur la composition et les propriétés du gluten. *Bull. Éc. Meun. Belge*, **7**, 18-32.

Chopin M., 1937. Nouveaux appareils pour la préparation et l'essai d'extension des pâtes de farines. *Bull. Éc. fr. Meun.*, **60**, 172-179.

Coates J. H., Simmonds D. H., 1961. Proteins of wheat and flour. Extraction, fractionation, and chromatography of the buffer-soluble proteins of flour. *Cereal Chem.* **38**, 256-272.

Colvin J. R., Mc Calla A. G., 1949. Physical and chemical properties of gluten. I. Estimation of molecular properties using electrophoretic and diffusion data. *Canad. J. Res.*, **27** *c*, 103-124.

Cook W. H., 1931. *Canad. J. Res.*, **5**, 389-406.

Coulson C. B., Sim A. K., 1961. Starch-gel electrophoresis of isolated wheat gluten. *Biochem. J.*, **80**, 46-47.

Coulson C. B., Sim A. K., 1964. Proteins of various species of wheat and closely related genera and their relationship to genetical characteristic. *Nature*, **202**, 1305-1308.

Danielson C. E., 1949. Seed globulins of the Graminae and Leguminosae. *Biochem. J.* **44**, 387-400.

Deschreider A. R., 1960. L'électrophorèse des protéines du gluten. *Fermentatio*, **6**, 267-274.

Diehl R., Dupuy M., 1961. L'azote et le soufre dans la fertilisation du blé dur. *C. R. Acad. Agric.*, **47**, 976-982.

Dische Z., 1930. *Microchemie*, **8**, 4.

Dusseau A., 1932. A propos des méthodes d'étude de la valeur boulangère des blés. *Ann. Bot. Appl.*, **12**, 521-524.

Elton G. A. H., Ewart J. A. D., 1960. Starch-gel electrophoresis of wheat gluten. *Nature*, **187**, 600-601.

Elton G. A. H., Ewart J. A. D., 1962. Starch-gel electrophoresis of cereal proteins. *J. Sci. Food Agric.*, **13**, 62-72.

Elton G. A. H., Ewart J. A. D.,1963 *a*. Apparatus for automatic elution of wheat-protein fractions during starch-gel electrophoresis. *J. Sci. Food Agric.*, **14**, 175-179.

Elton G. A. H., Ewart J. A. D., 1963 *b*. Immunological comparaison of cereal proteins. *J. Sci. Food. Agric.*, **14**, 750-758.

El'miligi A. K., Vakar A. B., Kretovich V. L., 1964. L'influence des conditions de croissance sur le gluten de blé (en russe). *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, **155**, 702-704.

Feillet P., Bourdet A., 1964. Sur le comportement électrophorétique en gel d'amidon des protéines du blé solubles en milieu salin neutre. *C. R. Acad. Sci.*, **258**, 2939-2932.

Feyte A.,1935. Observations sur les matières azotées des blés et farines. *Ann. agron.*, **5**, 72-88.

Feyte A., Potel P., 1934. Appréciation des qualités des blés et farines. *Ann. agron.*, **4**, 180-206.

Fleurent E., 1896. Sur une méthode chimique d'appréciation de la valeur boulangère des farines de blé. *C. R. Acad. Sci.*, **123**, 775.

Gehrke C. W., Oh Y. H., Freeark C. W., 1964. *a*. Chemical fractionation and starch gel urea electrophoresis characterization of albumins, globulins, gliadins and glutenins in soft wheat. *Anal. Biochem.*, **7**, 439-460.

Gehrke C. W., Oh Y. H., Freeark C. W., 1964 *b*. Carboxymethyl-cellulose column chromatographic fractionation and starch gel-urea electrophoretic characterization of soft wheat proteins. *Anal. Biochem.*, **8**, 434-445.

Geller J. H., Custer J. H., Zittle C. A., 1960. Paper electrophoresis of proteins in acid buffer. *J. Chromatogr.*, **3**, 369-371.

Geslin H., Jonard J., 1948. Maturation du blé et climat. In *Le Pain*, 111-121, C. N. R. S., Paris.

Godon B., De Nuce de Lamothe M., Petit L., 1964. Fractionnement des protéines du gluten par filtration sur gel de dextrane. *C. R. Acad. Sci.*, **258**, 2574-2576.

Grace N. H., 1944. Note on dispersing agents for gluten. *Canad. J. Res.*, **22**, 280-281.

Grabar P., Benhamou N., Daussant J., 1962. Études électrophorétiques et immunochimiques de quelques protéines de l'orge et du blé. *Arch. Biochem. Biophys.* (suppl.), **1**, 187-199.

Graham J. S. D., 1963. Starch gel electrophoresis of wheat flour proteins. *Austral. J. biol. Sci.*, **16**, 342-349.

Graham J. S. D., Morton R. K., 1963. Studies of proteins of developing wheat endosperm : separation by starch-gel electrophoresis and incorporation of (^{35}S) sulfate. *Austral. J. biol. Sci.*, **16**, 357-365.

Graham J. S. D., Morton R. K., Simmonds D. H., 1963. Studies of proteins of developing wheat endosperm : fractionation by ion-exchange chromatography. *Austral. J. biol. Sci.*, **16**, 350-356.

Grosskreutz J. C., 1961. A lipoprotein model of wheat gluten structure. *Cereal Chem.* **38**, 336-349.

Guillemet R., Sonntag G., Guilbot A., 1942. Sur le gluten de la farine de blé. *C. R. Acad. Agric.*, **28**, 491.

Guillemet R., 1948. Sur l'évolution du contenu du grain de blé de la fécondation à la maturité. In *Le Pain*, 123-132, C. N. R. S., Paris.

Günzel G., 1962. Proteinfraktionen des Weizenmehles in Abhängigkeit von Herkunft, Sorte und Später N. Düngung. *Z. Acker- u. Pflanzenbau*, **114**, 325-340.

Guthrie F. B., 1896. The absorption of water by gluten of various wheats. *Agric. Gaz. N. S. Wales*, **7**, 583.

Harris R. H., Bailey C. H., 1937. The thermal fractions of gluten proteins and their relationship to baking strength. *Cereal Chem.*, **14**, 182-200.

Haugaard G., Johnson A. H., 1930. On the fractionation of gliadin. *C. R. Trav. Lab. Carlsberg*, **18**, n° 2, 1-138.

Hess K., 1954. Protein, Kleber und Lipoid in Weizenkorn und Mehl. *Kolloid Z.*, **136**, 84-99.

Holme J., Briggs D. R., 1959. Studies on the physical nature of gliadin. *Cereal Chem.*, **36**, 321-340.

Javillier M., Djelatides D., 1934. Sur une technique de dosage des matières protéiques des farines. Son application éventuelle à l'estimation de la valeur boulangère des blés. *Bull. Soc. Chim. biol.* **16**, 1542-1552.

Jennings A. C., Morton R. K., 1963. Changes in carbohydrate, protein, and non-protein nitrogenous compounds of developing wheat grain. *Austral. J. biol. Sci.*, **16**, 318-331.

Jones R. W., Babcock G. E., Taylor N. W., Dimler R. J., 1963. Fractionation of wheat gluten by gel filtration. *Cereal Chem.*, **40**, 409-414.

Jones R. W., Babcock G. E., Taylor N. W., Senti F. R., 1961. Molecular weights of wheat gluten fractions. *Arch. Biochem. Biophys.*, **94**, 483-488.

Jones R. W., Cluskey J. E., 1963. Preparation of aluminium lactate. *Cereal Chem.*, **40**, 589-591.

Jones R. W., Dimler R. J., 1962. Electrophoretic composition of glutens from air-classified flours *Cereal Chem.*, **39**, 336-340.

Jones C. R., Halton P., Stevens D. J., 1959. *J. Biochem. Microb. Techn. Eng.*, **1**, 77-98.

Jones R. W., Taylor N. W., Senti F. R., 1959. Electrophoresis and fractionation of wheat gluten. *Arch. Biochem. Biophys.*, **84**, 363-376.

Kaminski E., 1962. Study of wheat proteins soluble in water, salt solution, 70 p. 100 ethanol and dilute acetic acid by starch-gel electrophoresis. *J. Sci. Food Agric.*, **13**, 603-607.

Kelley J. J., Koenig V. L., 1962. Electrophoretic analysis of flour proteins. I. « Salt soluble » proteins. *J. Sci. Food Agric.*, **13**, 644-650.

Kelley J. J., Koenig V. L., 1963. Electrophoretic analysis of flour proteins from various varieties of wheat. *J. Sci. Food Agric.*, **14**, 29-38.

Koenig V. L., 1963. Electrophoretic analysis of flour proteins. II. Gluten. *J. Sci. Food Agric.*, **14**, 19-29.

KOENIG V. L., OGRINS A., TRIMBO H. B., MILLER B. S., 1964. The electrophoretic analysis of flour from several varieties of hard red winter wheat grown at several locations. *J. Sci. Food Agric.*, **15**, 492-497.

KOSMIN N. P., PEPZOWA A. I., 1934. *Das Mühlenlab.*, **4**, 153.

KREJCI L. E., SVEDBERG T., 1935. The ultracentrifugal study of gliadin. *J. amer. chem. Soc.*, **57**, 946-951.

LAMM O., POLSON A., 1936. The determination of diffusion constants of proteins by a refractometric method. *Biochem. J.*, **30**, 528-541.

LAWS W. D., FRANCE W. G., 1948. A comparative study of some protein fractions of wheat flour. *Cereal Chem.*, **25**, 231-243.

LEE J. W., 1963. Zone electrophoresis of wheat gluten on polyacrylamide gels. *Biochem. Biophys. Acta*, **69**, 159-160.

LONTIE R., CREVECŒUR A., DULCINO J., 1954. Comportement électrophorétique des protéines du gluten (en flamand). *Med. Chem. Ver.*, **16**, 53-57.

MC CALLA A. G., GRALEN N., 1942. Ultracentrifuge and diffusion studies on gluten. *Canad. J. Res.*, **20** *c*, 130-159.

MACHEBŒUF M., DELSAL J., 1943. Sur le dosage de très petites quantités de phosphate dans des matières organiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **25**, 116-120.

MEREDITH P., SAMMONS H. G., FRAZER A. C., 1960. Examination of wheat gluten by partial solubility methods. II. Partition by dilute formic acid. *J. Sci. Food Agric.*, **11**, 329-337.

MICHAEL G., 1963. Einfluss der Düngung auf Eiwessqualität und Eiwessfraktionen der Nahrungspflanzen. *Qual. Pl. Materiae. veg.*, **10**, 248-265.

MILLS G. L., 1954. Some observations on the electrophoresis of gliadin. *Biochem. Biophys. Acta*, **14**, 274-281.

MOORE S., STEIN W. H., 1954. Procedures for the chromatographic determination of amino acids on four per cent cross-linked sulfonated polystyrene resins. *J. Biol. Chem.*, **211**, 893-906.

MOSSE J., BAUDET J., 1963. Sur les conditions d'extraction aqueuse des protéines de la farine solubles dans l'eau. *C. R. Acad. Sci.*, **257**, 537-540.

MOUREAUX T., 1965 : Extraction des protéines des graines V. — Les composés phosphorés de la farine de Blé facteurs du fractionnement protéique au cours de l'épuisement de la farine par l'eau. *Ann. Physiol. vég.* **7**, 5-24.

NIMMO C. C., O'SULLIVAN M. T., MOHAMMAD A., PENCE J. W., 1963. Fractionation and zone electrophoresis of water-soluble materials of flour. *Cereal. Chem.*, **40**, 390-398.

NURET H., SCHOEFFTER J., 1958. Considérations sur les blés français. *Bull. Ec. Ffr. Meun.*, **163**, 153-166.

OGUR M., ROSEN G., 1950. Nucleic acids of plant tissues. I. Extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid. *Arch. Biochem.*, **25**, 262-276.

OLCOTT H. S., MECHAM D. K., 1947. Characterization of wheat gluten. I. Protein-lipid complex formation during doughing of flours. Lipoprotein nature of the glutenin fraction. *Cereal Chem.*, **24**, 407-414.

OLSON G. A., 1914. The quantitative estimation of the salt-soluble proteins in wheat flour. *Ind. Engl. Chem.*, **6**, 211-214.

OSBORNE T. B., 1907. *The proteins of the wheat kernel.* Carnegie Institution of Washington, Pub. nº 84.

PENCE J. W., 1953. Approximate isoelectric pH's of albumins from wheat flour. *Cereal Chem.*, **30**, 328-333.

PENCE J. W., ELDER A. H., 1953. The albumin and globulin proteins of wheat. *Cereal Chem.*, **30**, 275-287.

PENCE J. W., WEINSTEIN N. E., MECHAM D. K., 1954 *a*. A method for the quantitative determination of albumins and globulins in wheat flour. *Cereal Chem.*, **31**, 29-37.

PENCE J. W., WEINSTEIN N. E., MECHAM D. K., 1954 *b*. The albumin and globulin content of wheat flour and their relationship to protein quality. *Cereal Chem.*, **31**, 303-311.

PEREIRA A., 1945. Distribution des protéines dans le grain de blé (en portugais). *Agron. Lusit.*, **7**, 245-252.

PINCKNEY A. J., GREENAWAY W. T., ZELENY L., 1957. Further developments in the sedimentation test for wheat quality. *Cereal Chem.*, **34**, 16-25.

PORATH J., FLODIN P., 1959. Gel filtration : a method for desalting and group separation. *Nature*. **183**, 1657-1659.

ROUSSEAUX E., SIROT, 1918. Les matières azotées solubles comme indice de la valeur boulangère. *C. R. Acad. Sci.*, **166**, 190-192.

ROUSSEAUX E., SIROT, 1920. Les matières azotées et l'acide phosphorique dans la maturation et la germination du blé. *C. R. Acad. Sci.*, **171**, 578-580.

SCHMIDT G., THANNHAUSER S. J., 1945. A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, and phophoproteins in animal tissues. *J. Biol. Chem.* **161**, 83-89.

SCHWERT G. W., PUTNAM F. W., BRIGGS D. R., 1944. An electrophoretic study of gliadin. *Arch. Biochem.*, **4**, 371-386.

SHARP P. F., GORTNER R. A., 1923. Viscosity as a measure of hydratation capacity of wheat flour and its relation to baking. *Minn. agric. Exper. Stn. Tech. Bull.*, **19**.

SIMMONDS D. H., WINZOR D. J., 1961. Chromatographic fractionation of the acetic acid soluble proteins of wheat flour on carboxymethyl-cellulose. *Austral. J. Biol. Sci.*, **14**, 690-699.

Smith J. D., Markham R., 1950. The quantitative analysis of ribonucleic acids. *Biochem. J.*, **46**, 509-513.

Smithies O., 1955. Zone electrophoresis in starch gels : group variation in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. J.*, **61**, 629-641.

Snyder H., 1905. Testing wheat flour for commercial processes. *J. amer. chem. Soc.*, **27**, 1068.

Tschoegl N. W., 1961. Chloroethanol as a cereal protein dispersant. *Cereal Chem.*, **38**, 516-529.

Tyner E. P., Heidelbereg C., Le Page G. A., 1953. Intracellular distribution of radioactivity in nucleic acid nucleotides and proteins following simultaneous administration of P^{32} and glycine 2-C^{14}. *Cancer Research*, **13**, 186-203.

Vercouteren R., Lontie R., 1954. La solubilisation du gluten de froment par la diméthylformamide. *Arch. Intern. Physiol.*, **62**, 579.

Waldschmidt-Leitz E., Hochstrasser K., 1961. Über die Albumine aus Gerste und Weizen. *Z. Physiol. Chem.*, **324**, 243-249.

Woodman H. E., 1922. The chemistry of the strength of wheat flour. *J. agric. Sci.*, **12**, 231.

Woodman H. E., Engledow F. L., 1922. A chemical study of the development of the wheat grain. *J. agric. Sci.*, **14**, 563-586.

Woychik J. H., Boundy J. A., Dimler R. J., 1961 *a*. Starch gel electrophoresis of wheat gluten proteins with concentrated urea. *Arch. Biochem. Biophys.*, **94**, 477-482.

Woychik J. H., Boundy J. A., Dimler R. J., 1961 *b*. Amino acid composition of proteins in wheat gluten. *J. agric. Food Chem.*, **9**, 307-310.

Woychik J. H., Dimler R. J., Senti F. R., 1960. Chromatographic fractionation of wheat gluten on carboxymethylcellulose columns. *Arch. Biochem. Biophys.*, **91**, 235-239.

Woychik J. H., Huebner F. R., Dimler R. J., 1964. Reduction and starch gel electrophoresis of wheat gliadin and glutenin. *Arch. Biochem. Biophys.*, **105**, 151-155.

Wright W. B., Brown P. J., Bell A. V., 1964. A method of fractionation of flour proteins by means of gel filtration on Sephadex G-100. *J. Sci. Food Agric.*, **15**, 56-62.

Wrigley C. W., 1963. The protein composition of air-classified flour fractions. *J. Sci. Food Agric.*, **14**, 120-124.

Zeleny L., 1947. A simple sedimentation test for estimating the bread-baking and gluten qualities of wheat flour. *Cereal Chem.*, **24**. 465-475.

Zentner H., 1960. The continuous electrophoresis of wheat gluten. *Chem. Ind.*, **12**, 317-318.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION

I. — TRAVAUX ANTÉRIEURS

1. Protéines solubles 11
2. Protéines du gluten 13
Les Gliadines 13
La gluténine 15
Le gluten 15
Conclusion 16

II. — TRAVAUX PERSONNELS

1. MATÉRIEL D'ÉTUDE 18
2. MÉTHODES EXPÉRIMENTALES 20

Extraction des différents groupes protéiques 20
Extraction des protéines solubles 20
Extraction des protéines du gluten 20
Fractionnement des différents groupes protéiques — Électrophorèse et chromatographie 21
Électrophorèse sur papier 21
Électrophorèse en gel d'amidon 22
a) Matériel 22
b) Nature des tampons 23
c) Préparation du gel 23
d) Dépôt des échantillons 23
e) Conditions de migration 26
f) Coloration 26
g) Évaluation quantitative des fractions 26
h) Présentation des résultats 27
Chromatographie sur Séphadex 28

Autres méthodes analytiques et expérimentales 28
Humidité 28
Azote 29
Phosphore 29
Acides aminés 29
Lipides 29
Dosage des acides nucléiques 29

Identification des constituants nucléiques des globulines 30
Dialyse 30
Lyophilisation 30

Détermination des caractéristiques technologiques 30

Teneur en gluten 30
Indice alvéographique 31
Indice de sédimentation 31

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION 32

Étude physicochimique des protéines du blé 32

Isolement des différents groupes protéiques. Mise au point d'un protocole d'extraction spécifique 32

A — Groupe des albumines-globulines 33
a) *Isolement des protéines solubles* 33
b) *Séparation des albumines et des globulines* 35

B — Groupe des gliadines 35

C — Groupes des gluténines 38

Composition chimique des groupes protéiques isolés 39

A — Composition en acides aminés 40

B — Étude de quelques constituants non protéiques associés 41
a) *Nature nucléoprotéique de certains groupes* 42
b) *Nature lipidoprotéique de certains groupes* 44

Comportement électrophorétique et chromatographique des groupes protéiques isolés 45

A — Comportement électrophorétique 45
a) *Différenciation des quatres groupes protéiques* 45
b) *Hétérogénéité des groupes protéiques* 47

B — Comportement chromatographique des protéines solubles sur Séphadex G 25 47

Évolution des protéines du grain au cours de la maturation 51

A — Matériel d'étude 51

B — Résultats 54
a) *Composition protéique* 54
b) *Constitution protéique* 57
c) *Discussion* 57

Influence des facteurs génétiques et agronomiques sur la composition protéique des blés 59

Matériel d'étude 59
Résultats et discussion 62

A — Influence des facteurs génétiques 67
a) *Composition protéique* 67
b) *Constitution protéique* 71

B — Influence des facteurs agronomiques 76
a) *Alimentation en eau* 76
b) *Apport d'azote tardif* 77

c) *Carence en soufre* 78
Conclusion 79
— *Influence des facteurs technologiques sur la composition protéique des farines* 81
Modifications apportées aux constituants protéiques des farines par certaines techniques de transformation 81
A — Matériel 81
B — Résultats 82
a) *Farines de passages* 82
b) *Farines turboséparées* 86
C — Discussion 86
Composition protéique et caractéristiques technologiques des farines 88
A — Matériel d'étude 88
B — Résultats et discussion 88
a) *Composition protéique* 89
b) *Constitution protéique* 89
Conclusion 91

Conclusion générale

Résumé

Bibliographie

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

RÔLE DES GROUPEMENTS THIOLS ET DISULFURES DANS LES PROPRIÉTÉS RHÉOLOGIQUES DES PATES.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 1er juin 1965

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Marc ZAMANSKY

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean ROCHE

Imprimerie Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 1-1966.

Dépôt légal : 1er trimestre 1966. — N° d'impression : 1967